Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

160. BAND, 3. HEFT

MIT 14 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 24. FEBRUAR 1958)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1958

Z. anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28–30
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 160 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3

Originalabhandlungen

Seite

Gottschalk, G., und **P. Dehmel,** Statistik in der chemischen Analyse. II. Die Bewertung praktischer Analysen 161

Blasius, E., und **G. Lange,** Ionenaustauschermembranen in der präparativen und analytischen Chemie. Mit 9 Textabbildungen 169

Pendse, G. P., H. D. Bhargava and **B. R. Sant,** Gravimetric Determination of Silver as Silver Chromate 188

Rao, V. Panduranga, and **G. Gopala Rao,** A New Volumetric Method for the Determination of Uranium (VI). Photochemical Reduction with Ether 190

Saxena, R. S., Potentiometric Determination of Lead. With 4 Figures in the text 194

Szekeres, L., Über die titrimetrische Bestimmung der Bromid-Ionen 198

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Osram-Studiengesellschaft für elektrische Beleuchtung, Berlin

Statistik in der chemischen Analyse. II*

Die Bewertung praktischer Analysen

Von

G. Gottschalk und P. Dehmel

(Eingegangen am 17. Oktober 1957)

1. Einleitung

In der ersten Mitteilung[1] ist die rechnerische Aufdeckung systematischer und grober Fehler im Rahmen titrimetrischer und gravimetrischer Modellanalysen behandelt worden. Nach Eliminierung dieser Fehler durch eine Korrekturrechnung (Ausgleichsrechnung) wird als Maß der zufälligen Fehler die Standardabweichung s oder die Varianz V erhalten. Durch Multiplikation mit einem Verteilungskoeffizienten t liefern diese Größen statistische Fehlerbereiche (Streubereiche) T bzw. Q.

Statistisch gesicherte Korrekturgrößen X_A und X_R geben Hinweise auf Fehlerquellen des Verfahrens, die gegebenenfalls auch bei praktischen Analysen berücksichtigt werden müssen (z. B. Blindwerte).

Im folgenden wird die Möglichkeit der Übertragung der durch Modellanalysen erschlossenen Bewertungsgrößen auf praktische Analysen diskutiert und die Beantwortung häufiger analytischer Fragestellungen mit statistischen Methoden aufgezeigt.

2. Einzelwerte und Mittelwerte praktischer Analysen

Bei praktischen Analysen ist der „wahre" oder „vorgegebene" Wert b unbekannt. Daher wird die gefundene absolute Menge c im allgemeinen auf die Einwaage G bezogen, d. h. in Gewichtsprozent H angegeben. Führt man die praktischen Analysen unter den gleichen Verhältnissen wie die Modellanalysen durch, so sind die gefundenen Werte c zunächst in korrigierte Werte c_K umzurechnen, wobei die unvermeidbaren systematischen Fehler eliminiert werden.

$$c_K = (c + X_A) \cdot \left(1 + \frac{X_R}{100}\right) = (c + X_A) \cdot R \; [\mu g; \text{mg}; \text{usw.}] \qquad (1)$$

Systematische Fehler sind bei praktischen Analysen unvermeidbar und daher zu berücksichtigen, wenn sie nicht durch fehlerhafte Standardlösungen bei Modellanalysen bedingt sind und wenn die weiteren Fehlerquellen nicht durch praktische Maßnahmen eliminiert werden (z. B. Vorreinigung der verwendeten Reagentien).

---

* I. Mitteilung: diese Z. **159**, 81 (1957/58).

Man darf voraussetzen, daß der gefundene und korrigierte Wert c_K innerhalb des statistischen Fehlerbereiches $T = T_M$ der Modellanalysen mit dem „wahren" Wert b übereinstimmt, sofern unter gleichen Verhältnissen gearbeitet wird. Der Begriff „gleiche Verhältnisse" muß sehr eng gefaßt werden und bezieht sich nicht nur auf die allgemeinen Arbeitsbedingungen, sondern auch auf die Anwesenheit von Fremdionen. Bei einer einzelnen praktischen Analyse kann man die Voraussetzung „gleicher Verhältnisse" nicht am Ergebnis der praktischen Analyse überprüfen. Bei mehreren praktischen Analysen ist jedoch eine statistisch fundierte Prüfung (auf Gleichheit der zufälligen Fehler) möglich, wie im Abschnitt 3 noch gezeigt wird. Systematische Fehler sind nur durch Modellanalysen erfaßbar.

Das Ergebnis der Einzelbestimmung wird angegeben als:

$$H = 100 \frac{c_K}{G} \qquad [\text{Gew.-\%}] \qquad (2)$$

Der statistische Fehlerbereich folgt unmittelbar aus:

$$Q_H = 100 \frac{T_M}{G} = 100 \cdot \frac{s_K}{G} \cdot t_M = V_H \cdot t_M \qquad [\text{Gew.-\%}] \qquad (3)$$

s_K = Standardabweichung der Modellanalysen
t_M = statistischer Verteilungskoeffizient der Modellanalysen

Q_H bzw. V_H sind auf die Einwaage G bezogen und sind nicht zu verwechseln mit Q bzw. Varianz V, die auf die „wahren" Werte b bezogen sind. Zur Unterscheidung werden die Dimensionen „Gew.-%" und „Rel.-%" angegeben.

Werden n_p praktische Analysen durchgeführt, so faßt man die Einzelergebnisse H in üblicher arithmetischer Mittelwertbildung zusammen.

$$\bar{H} = \frac{1}{n_p} \sum_{1}^{n_p} H \qquad [\text{Gew.-\%}] \qquad (4)$$

Die Zusammenfassung nach (4) ist aber nur dann zulässig, wenn die Einwaagen G nicht mehr als etwa 10% um den Mittelwert $\bar{G}$ streuen. Diese Einschränkung wird verständlich, wenn man berücksichtigt, daß die einzelnen H-Werte in Abhängigkeit von G (proportional b) verschieden genau sind. Je größer die Einwaage G gewählt wird, um so kleiner wird die Varianz $V = 100 \frac{s_K}{b}$ bzw. $V_H = 100 \frac{s_K}{G}$ ausfallen.

Auf die Mittelwertbildung bei stark verschiedenen Einwaagen G soll hier nicht eingegangen werden, da ein solches Verfahren in der Praxis selten zu rechtfertigen ist und der rechnerische Aufwand in keinem Verhältnis zu den erreichbaren Vorteilen steht. Zumeist ist der ungefähre Gehalt einer Fremdsubstanz bekannt, so daß die Einwaagen unschwer so

zu bemessen sind, daß c_K innerhalb des durch Modellanalysen erschlossenen Mengenbereiches zu liegen kommt. Bei völlig unbekannten Gehalten empfiehlt sich eine Voranalyse.

3. Fehlerbereiche von Mittelwerten

Unabhängig davon, ob das Verfahren durch Modellanalysen bewertet worden ist, erhält man einen Vertrauensbereich des Mittelwertes $\bar{H}$ aus:

$$\bar{V}'_H = \sqrt{\frac{\sum_1^{n_p} v_H^2}{n_p\,(n_p - 1)}} = \frac{V'_H}{\sqrt{n_p}} \quad [\text{Gew.-}\%] \qquad (5)$$

$$v_H = H - \bar{H}$$

Aus den Bewertungsgrößen der Modellanalysen folgt:

$$\bar{V}_H = 100 \cdot \frac{s_K}{\sqrt{n_p} \cdot \bar{G}} = \frac{V_H}{\sqrt{n_p}} \quad [\text{Gew.-}\%] \qquad (6)$$

Falls die Voraussetzung „gleicher Verhältnisse" zutrifft, sollten sich $\bar{V}'_H$ und $\bar{V}_H$ statistisch nicht voneinander unterscheiden.

Für $\bar{V}'_H \leqq \bar{V}_H$ darf man diese Voraussetzung als erfüllt ansehen.

Für $\bar{V}'_H > \bar{V}_H$ ist eine statistische Prüfung mit dem sogenannten F-Test notwendig. Hierzu vergleicht man:

$$\vartheta^2 = \left(\frac{\bar{V}'_H}{\bar{V}_H}\right)^2 \text{ mit } F \begin{cases} f_1 = n_p - 1 \\ f_2 = n - 2 \end{cases} \qquad (7)$$

Der Wert F bezeichnet die Integralgrenzen eines von 2 Freiheitsgraden f_1 (= praktische Analysen) und f_2 (= Modellanalysen) abhängigen Verteilungsintegrals (F-Verteilung). Tab. 1 bringt eine Zusammenstellung

Tabelle 1. *F (95) und F (99) als Funktion von f_1 und f_2*

Modell-analysen		S = 95 %				S = 99 %			
n	f_2	$n_p = 2$ $f_1 = 1$	$n_p = 3$ $f_1 = 2$	$n_p = 4$ $f_1 = 3$	$n_p = 10$ $f_1 = 9$	$n_p = 2$ $f_1 = 1$	$n_p = 3$ $f_1 = 2$	$n_p = 4$ $f_1 = 3$	$n_p = 10$ $f_1 = 9$
12	10	4,96	4,10	3,71	3,02	10,04	7,56	6,55	4,94
16	14	4,60	3,74	3,34	2,64	8,86	6,51	5,56	4,03
20	18	4,41	3,55	3,16	2,45	8,28	6,01	5,09	3,60
24	22	4,30	3,44	3,05	2,34	7,94	5,72	4,82	3,34
40	38	4,09	3,24	2,85	2,13	7,35	5,21	4,34	2,91
48	46	4,05	3,20	2,81	2,09	7,22	5,09	4,24	2,81

der F-Werte für die statistischen Sicherheiten $S = 95\%$ und $S = 99\%$ und die in der Praxis häufigen Bedingungen in bezug auf die Zahl n der Modellanalysen und die Zahl n_p an praktischen Analysen. Weiteres Zahlenmaterial ist notfalls statistischen Tabellenwerken zu entnehmen[2].

Auf Grund des F-Testes sind folgende Aussagen möglich:

$\vartheta^2 < F$ (95) Unterschied rein zufällig

$\vartheta^2 \geqq F$ (99) $\overline{V}'_H$ statistisch gesichert größer als $\overline{V}_H$

F (95) $\leqq \vartheta^2 < F$ (99) Keine eindeutige Aussage (Wahrscheinlichkeitsbereich). Es müssen zur Klärung weitere praktische Analysen durchgeführt werden.

Bei $\overline{V}'_H > \overline{V}_H$ dürfen die aus den Modellanalysen erschlossenen Bewertungsziffern nicht auf die praktischen Analysen übertragen werden. Der Fehlerbereich des Mittelwertes folgt aus:

$$\overline{Q}'_H = \overline{V}'_H \cdot t_p \qquad [\text{Gew.-}\%)] \qquad (8)$$

t_p = Verteilungskoeffizient für $f = n_p - 1$

Auch eine Überprüfung der systematischen Fehler muß vorgenommen werden, sofern man es nicht vorzieht mit c anstatt c_K zu rechnen.

Als Ursachen für $\overline{V}'_H > \overline{V}_H$ kommen vorzugsweise in Betracht:

Die Voraussetzung gleicher Verhältnisse ist nicht erfüllt.

Die praktische Analysengruppe enthält Ausreißer.

Das untersuchte Material hat eine inhomogene Zusammensetzung.

In allen Fällen, wo $\overline{V}'_H \leqq \overline{V}_H$ bzw. zwischen $\overline{V}'_H$ und $\overline{V}_H$ rein zufällige Unterschiede bestehen, darf als Fehlerbereich des Mittelwertes der aus Modellanalysen erschlossene Wert:

$$\overline{Q}_H = \overline{V}_H \cdot t_M = 100 \frac{T_M}{\sqrt{n_p} \cdot G} \qquad [\text{Gew.-}\%] \qquad (9)$$

angegeben werden. Der Fehlerbereich $\overline{Q}_H$ nach (9) ist sehr viel enger als der Fehlerbereich $\overline{Q}'_H$, was für praktische Fragestellungen von Bedeutung sein kann.

Praktische Beispiele

Unbekannte $ZnCl_2$-Substanzen sollen auf ihren Gehalt an Zn analysiert werden. Man verwendet die komplexometrische Zn-Bestimmung, deren statistische Bewertungsgrößen bereits in Arbeit I erschlossen worden sind. Es wird unter gleichen Verhältnissen wie bei den Modellanalysen (gleiche Pufferlösung, gleiche Büretten u. a. m.) gearbeitet. Da der dort gefundene relative systematische Fehler (X_R) durch die Standardlösung bedingt ist, sind bei praktischen Analysen nur die absoluten systematischen Fehler als unvermeidbar zu berücksichtigen (X_A durch Verunreinigungen der Pufferlösung). Man erhält bei praktischen Analysen somit:

$$c_K = c + X_A = c - 0{,}106 \qquad [\text{mg Zn}]$$

Als Standardabweichung s_K wird aus $n = 24$ ($f = 22$) Modellanalysen erschlossen:

$$s_K = \pm\, 0{,}042 \qquad [\text{mg Zn}]$$

Man darf annehmen, daß der Zn-Gehalt maximal 40 Gew.-% beträgt ($ZnCl_2 \cdot 1{,}5\ H_2O$; $M = 163{,}32$), so daß bei einer Einwaage von $G \simeq 150$ mg im

oberen genaueren Teil des durch Modellanalysen erschlossenen Bereiches gearbeitet wird. Tab. 2 gibt eine Zusammenstellung von Werten zweier verschiedener $ZnCl_2$-Substanzen.

Tabelle 2. *Zn-Bestimmungen in $ZnCl_2$-Substanzen*

Substanz	Nr.	Einwaage G mg	0,1 m $Na_2[H_2Y]$ ml	gefunden c mg Zn	e_K mg Zn	H Gew.-% Zn	Mittelwerte
I	1	149,8	7,95	51,98	51,87	34,63	$\bar{G}$ = 149,2 mg
	2	153,2	8,12	53,09	52,98	34,58	$\bar{H}$ = 34,613 Gew.-%
	3	142,0	7,53	49,23	49,12	34,59	$\bar{V}'_H$ = ± 0,0165 Gew.-%
	4	151,9	8,07	52,76	52,64	34,65	$\bar{V}_H$ = ± 0,0141 Gew.-%
II	1	150,7	6,91	45,18	45,07	29,91	$\bar{G}$ = 151,6 mg
	2	154,5	7,12	46,55	46,44	30,06	$\bar{H}$ = 29,940 Gew.-%
	3	149,1	6,80	44,92	44,46	29,82	$\bar{V}'_H$ = ± 0,0505 Gew.-%
	4	152,1	6,99	45,70	45,59	29,97	$\bar{V}_H$ = ± 0,0139 Gew.-%

Wegen $\bar{V}'_H > \bar{V}_H$ muß nach dem F-Test (7) geprüft werden.
Substanz I: $\vartheta^2 = 1{,}37 < F\,(95) = 3{,}05$ Unterschied rein zufällig.
Substanz II: $\vartheta^2 = 13{,}20 > F\,(99) = 4{,}82$ Unterschied statistisch gesichert.

Bei Substanz I dürfen die Bewertungsgrößen der Modellanalysen gemäß Beziehung (9) übertragen werden. Man erhält mit $t_M\,(99) = 2{,}819$ bzw. $t_M\,(99{,}9) = 3{,}792$ ($f = 22$):

$$\bar{H} = 34{,}61 \text{ Gew.-\% Zn};\quad \bar{Q}_H\,(99) = \pm 0{,}04 \text{ Gew.-\% Zn}$$

$$\bar{Q}_H\,(99{,}9) = \pm 0{,}05 \text{ Gew.-\% Zn}$$

Bei Substanz II muß Beziehung (8) verwendet werden, so daß sich mit $t_p\,(99) = 5{,}84$ bzw. $t_p\,(99{,}9) = 12{,}94$ ($f = 3$)[2] ergibt:

$$\bar{H} = 29{,}94 \text{ Gew.-\% Zn};\quad \bar{Q}'_H\,(99) = \pm 0{,}29 \text{ Gew.-\% Zn}$$

$$\bar{Q}'_H\,(99{,}9) = \pm 0{,}65 \text{ Gew.-\% Zn}$$

Als Ursache der großen Streuung bei Substanz II sind Inhomogenitäten wahrscheinlich (hygroskopisches Verhalten).

4. Praktische Analysen bei vorgegebenem Vertrauensbereich

Bisweilen darf bei praktischen Analysen ein vorgegebener Vertrauensbereich $\bar{V}_H$ nicht überschritten werden. Die zur Erfüllung einer solchen Forderung notwendige Anzahl n_p an praktischen Analysen ergibt sich unmittelbar aus der Beziehung (6):

$$n_p = \left(\frac{100}{G} \cdot \frac{s_K}{\bar{V}_H}\right)^2 \tag{10}$$

Nach der Durchführung der n_p praktischen Analysen überzeuge man sich, daß $\bar{V}_H \leqq \bar{V}_H$ bzw. $\bar{V}'_H$ rein zufällig größer als $\bar{V}_H$ ist, da nur in diesem Fall der Ansatz (6) bzw. (10) nachträglich gerechtfertigt ist.

5. Vergleich von Mittelwerten praktischer Analysen

Eine in der Praxis häufig auftretende Frage, ob die Analysenergebnisse $\overline{H}_1$ und $\overline{H}_2$ zweier verschiedener Proben einen statistisch gesicherten Unterschied aufweisen, kann ebenfalls mit Hilfe einer statistischen Prüfformel beantwortet werden. Man wird zweckmäßig für jede Probe eine gleiche Anzahl $n_p = n_{p1} = n_{p2}$ an praktischen Analysen durchführen, wobei auch jeweils annähernd gleiche Einwaagen G vorzulegen sind.

Sofern die Bewertungsgrößen der Modellanalysen verwendet werden dürfen ($\overline{V}'_H \leqq \overline{V}_H$ usw.), kann geprüft werden nach[2].

$$\tau = \frac{|\overline{H}_1 - \overline{H}_2|}{|\overline{V}_H| \cdot \sqrt{2}} \tag{11}$$

verglichen mit t_M für $f = n - 2$ (n = Zahl der Modellanalysen)

$$\overline{V}_H = 100 \cdot \frac{s_K}{\overline{G} \cdot \sqrt{n_p}} \; ; \qquad \overline{\overline{G}} = \frac{1}{2\,n_p} \sum_{1}^{2\,n_p} G$$

Liegen keine Modellanalysen vor oder dürfen entsprechende Bewertungsgrößen nicht übertragen werden, so muß man prüfen nach:

$$\tau = \frac{|\overline{H}_1 - \overline{H}_2|}{|\sqrt{(\overline{V}_H')_1^2 + (\overline{V}_H')_2^2}|} \tag{12}$$

verglichen mit t für $f = 2$ ($n_p - 1$).

Für $\tau \leqq t$ (95) ist der Unterschied der beiden Mittelwerte $\overline{H}_1$ und $\overline{H}_2$ rein zufällig und für $\tau \geqq t$ (99) statistisch gesichert. Wird t (95) $\leqq \tau < t$ (99) gefunden, so ist eine eindeutige Aussage nicht möglich (Wahrscheinlichkeitsbereich).

Praktische Beispiele

Bei der in Abschnitt 3 behandelten Zn-Bestimmung befanden sich die Substanzen I und II jeweils in 2 Gefäßen (a) und (b). Es wurde gefunden:

	Gefäß a	Gefäß b
Substanz I	$\overline{H} = 34{,}61$ [Gew.-%]	$\overline{H} = 34{,}69$ [Gew.-%]
$\overline{\overline{G}} = 150{,}1$	$\overline{V}'_H = \pm 0{,}017$ [Gew.-%]	$\overline{V}'_H = \pm 0{,}012$ [Gew.-%]
$n_p = 4$	$\overline{V}_H = \pm 0{,}014$ [Gew.-%]	$\overline{V}_H = \pm 0{,}014$ [Gew.-%]

Da die Bewertungsziffern der Modellanalysen verwendet werden dürfen, folgt nach (11)

$$\tau = \frac{0{,}07}{0{,}014 \cdot \sqrt{2}} = 3{,}53 > t_M\,(99) = 2{,}82 \qquad (f = 22)$$

Die Gehalte in den Gefäßen a und b weisen danach einen statistisch gesicherten Unterschied auf.

	Gefäß a	Gefäß b
Substanz II	$\overline{H} = 29{,}94$ [Gew.-%]	$\overline{H} = 30{,}11$ [Gew.-%]
$\overline{\overline{G}} = 184{,}7$	$\overline{V}'_H = \pm 0{,}051$ [Gew.-%]	$\overline{V}'_H = + 0{,}063$ [Gew.-%]
$n_p = 4$	$\overline{V}_H = \pm 0{,}014$ [Gew.-%]	$\overline{V}_H = \pm 0{,}014$ [Gew.-%]

Da die Bewertungsziffern der Modellanalysen nicht verwendet werden dürfen, folgt nach (12):

$$\tau = \frac{0{,}17}{0{,}081} = 2{,}10 < t_p\,(95) = 2{,}45 \qquad (f = 6)$$

Zwischen den Gehalten in den Gefäßen a und b ist danach ein statistisch gesicherter Unterschied nicht feststellbar.

6. Zur Definition einer Nachweisgrenze

Werden zur Bewertung eines bestimmten analytischen Verfahrens Modellanalysen durchgeführt und durch Ausgleichsrechnung (siehe Arbeit I) unvermeidbare absolute systematische Fehler in Form einer Korrekturgröße X_A festgestellt, so läßt sich aussagen, daß bei praktischen Analysen Substanzmengen, die kleiner als $|X_A|$ sind, nicht mehr erfaßt werden können. Offenbar besteht zwischen der Nachweisgrenze b_N und absoluten systematischen Fehlern ein enger Zusammenhang. Man kann annehmen, daß sich die hypothetische Größe b_N und $|X_A|$ nur um den absoluten Betrag ihres wahrscheinlichen Fehlerbereiches unterscheiden.

$$b_N - |X_A| = \left|\sqrt{T_N{}^2 + T_x{}^2}\right|$$

Darüber hinaus sollte der unbekannte Fehlerbereich T_N der Nachweisgrenze b_N identisch mit dem Fehlerbereich T_x des absoluten systematischen Fehlers sein, so daß:

$$b_N - |X_A| = \sqrt{2} \cdot |T_x|$$

Der Fehlerbereich $T_x = s_x \cdot t_x$ ergibt sich aus:

$$s_x = \bar{s}\,(X_A) \cdot \sqrt{p\,(X_A)} = s_K$$

und $t_x = t\,(99{,}9)$ für die statistische Sicherheit $S = 99{,}9\,\%$ und dem Freiheitsgrad $f = n - 2$ (n = Zahl der Modellanalysen).

Damit folgt für die Nachweisgrenze b_N:

$$b_N = |X_A| + |\sqrt{2} \cdot s_K \cdot t\,(99{,}9)| = |X_A| + |\sqrt{2} \cdot T\,(99{,}9)| \qquad (13)$$

[in mg, μg, usw.]

$T\,(99{,}9)$ = absoluter Fehlerbereich des Verfahrens für $S = 99{,}9\,\%$ und $f = n{-}2$.

Beziehung (13) gilt jeweils für einen Einzelwert. Bei mehreren praktischen Analysen sind die Fehlerbereiche T durch Vertrauensbereiche $\bar{T}$ gemäß

$$\bar{T} = \frac{T}{\sqrt{n_p}}$$

zu ersetzen. Man erhält:

$$\bar{b}_N = |X_A| + \left|\sqrt{2} \cdot \frac{s_K}{\sqrt{n_p}} \cdot t\,(99{,}9)\right| = |X_A| + |\sqrt{2} \cdot \bar{T}\,(99{,}9)| \qquad (14)$$

[in mg, μg usw.]

Die Beziehungen (13) und (14) stellen den allgemeinsten Fall der Definition der Nachweisgrenze dar und behalten auch für $X_A = 0$ ihre Geltung. Sofern $X_A < 0$, d. h. systematische Überbefunde festgestellt werden, besteht prinzipiell die Möglichkeit, die Nachweisgrenze b_N durch gesondert durchgeführte Blindanalysen festzustellen. In (13) und (14) muß ersetzt werden:

X_A durch $\bar{x}_B$ (Mittelwert der Blindanalysen)
s_K durch s_B (Standardabweichung der Blindanalysen)
t (99,9) für $S = 99{,}9\%$ und $f = n - 2$
durch t (99,9) für $S = 99{,}9\%$ und $f = n_B - 1$
(n_B = Zahl der Blindanalysen)

Praktische Beispiele

Im Falle des in Arbeit I diskutierten Zn-Beispieles findet man für die Nachweisgrenze b_N

aus Modellanalysen

$X_A = 0{,}106$ mg Zn
T (99,9) $= \pm 0{,}16$ mg Zn

$$b_N = 0{,}33 \text{ mg Zn}$$

aus Blindanalysen

$n_B = 8$
$\bar{x}_B = 0{,}092$ mg Zn
$s_B = \pm 0{,}004 \cdot \sqrt{8} = \pm 0{,}011$ mg Zn
t (99,9) $= 5{,}41$ ($f = 7$)

$$b_N = 0{,}18 \text{ mg Zn}$$

Man kann unter den vorliegenden Verhältnissen mithin eine Nachweisgrenze von

$$b_N \simeq 0{,}2\text{—}0{,}3 \text{ mg Zn}$$

annehmen. Die Bestimmung so kleiner Substanzmengen mit 0,1 m $Na_2[H_2Y]$ ist jedoch für die Praxis undiskutabel, da sie nur mit einer Varianz von

$$V = 100 \frac{s_K}{0{,}25} = \pm 168 \text{ Rel.-}\% \text{ (!)}$$

erfaßt werden können.

Zusammenfassung

Es wird die Übertragung der durch Modellanalysen erschlossenen Bewertungsziffern auf praktische Analysen behandelt. Wenn bei den praktischen Analysen unter gleichen Verhältnissen wie bei den Modellanalysen gearbeitet wird, können unvermeidbare systematische Fehler auch bei den praktischen Analysen eliminiert werden. Damit ist prinzipiell eine Übertragung der Bewertungsgrößen möglich. Sofern mehrere

praktische Analysen durchgeführt werden, läßt sich die Voraussetzung für eine solche Übertragung durch einen Streuungsvergleich nach dem F-Test überprüfen. Darüber hinaus wird auf die notwendige Anzahl praktischer Analysen bei vorgegebenem Vertrauensbereich und auf den Vergleich von Mittelwerten praktischer Analysen eingegangen. Aus den durch Modellanalysen erschlossenen Bewertungsziffern kann eine Nachweisgrenze b_N abgeleitet werden. Treten systematische Überbefunde auf, so ist b_N auch durch gesondert durchgeführte Blindanalysen erfaßbar. Die Anwendungen der Beziehungen werden an einigen Beispielen gezeigt.

Literatur

[1] Gottschalk, G., u. P. Dehmel: diese Z. 159, 81 (1957). — [2] Z. B.: Graf, U., u. H. J. Henning: Formeln und Tabellen der math. Statistik. Springer-Verlag 1953.

Dr.-Ing. G. Gottschalk, Osram-G. m. b. H., Berlin NW 87, Helmholtzstraße 4—8

Aus dem anorganisch-chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

Ionenaustauschermembranen in der präparativen und analytischen Chemie

Von
E. Blasius und G. Lange

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. August 1957)

Ionenaustauscher auf Kunstharzbasis in Membranform sind für die Elektrodialyse verwendbar. Ihr Vorteil gegenüber gewöhnlichen Membranen liegt in der Spezifität gegenüber Ionen eines bestimmten Ladungssinnes. Während über die praktische Verwendung von Ionenaustauschermembranen (AM) in der Literatur nur relativ wenig Arbeiten vorliegen, befaßt sich der größte Teil der Veröffentlichungen mit physikalisch-chemischen Messungen[2-7]. Für die Anwendung der AM ist dagegen das Verhalten in nicht stationären Systemen, besonders unter Stromeinfluß von Interesse.

In vorliegender Arbeit werden grundsätzliche und übersichtliche analytische Trennungen und präparative Darstellungen untersucht und die theoretischen und praktischen Ergebnisse mit denjenigen verglichen, die mit Austauschersäulen erhalten werden.

In einer zurückliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Membranspezifität bei der Elektrodialyse bis zu Konzentrationen, die etwa die Hälfte der Fest-Ionenkonzentration betragen, gewährleistet ist.

An einem prinzipiellen Beispiel, der Fe-Mn-Trennung mit Hilfe der Fe-Oxalat-Komplexe wurde die Existenz von anionischen, kationischen und Neutralkomplexen nachgewiesen[31].

Die Austauschgleichgewichte können durch die Donnan-Membrantheorie beschrieben werden[1]. Die Selektivität des Austauschers gegenüber verschiedenen Ionen hat ihre Ursache in den unterschiedlichen Aktivitätskoeffizienten. Die Selektivität ist auch für die Überführung in der AM maßgebend. Wie inzwischen auch von anderen Autoren[16] festgestellt worden ist, werden selektiver gebundene Ionen auch bevorzugt übergeführt. Diese Tatsache gilt jedoch nur für eine heteropolare Bindung zwischen Ion und Festgruppe. Wird die Selektivität dagegen auf Grund von Komplexbildungstendenzen, Ionenpaarbildung oder Adsorption[17], insbesondere bei mehrwertigen oder deformierbaren Ionen verursacht, so ist auch die Beweglichkeit und damit die Überführung durch AM geringer. Die entscheidende Wirkung der AM bei der Elektrodialyse beruht auf den Eigenschaften ihrer aktiven Gruppe und die Überführung vollzieht sich durch sukzessiven Austausch und nicht durch freie Ionenwanderung. Dabei ist naturgemäß die Wirkung des elektrischen Feldes im Gegensatz zu den stromlosen Säulenverfahren zu berücksichtigen. Ist die Überführung der anwesenden Anionen und Kationen wesentlich voneinander verschieden, so treten Neutralitätsstörungen auf[2,10,31].

Als Vorteile gegenüber der Verwendung von Harzaustauschersäulen ergeben sich bei der analytischen Verwendung der Fortfall der Regeneration und Elution sowie die Möglichkeit zur Durchführung mehrerer Parallelanalysen. Bei der präparativen Verwendung sind darüber hinaus als besondere Vorteile zu nennen: die Reinheit der erhaltenen Produkte ohne Mehraufwand und der gleichzeitige Austausch von Anion und Kation. Bei der Darstellung von Komplexsalzen ist das AM-Verfahren außerdem dadurch überlegen, daß die Möglichkeit besteht, schwerer in leichter lösliche Verbindungen umzuwandeln, den Austausch komplex gebundener Liganden auszuschalten und Verbindungen herzustellen, die mittels Säulenverfahren nur schwierig erhalten werden können, falls deren freie Base oder Säure unbeständig ist.

A. Apparaturen, Membranen und Arbeitsmethode

Es wurde eine Elektrolyseapparatur entwickelt (Abb. 1), die einerseits eine unmittelbare Auswirkung der Elektrodenvorgänge auf die untersuchten Lösungen ausschließt und andererseits unter bestimmten Bedingungen Parallelversuche in einer einzigen Anordnung zuläßt. Die Apparatur besteht je nach den Bedingungen aus 6 oder 8 quaderförmigen Plexiglaszellen. Die Arbeitszellen (numeriert von 1—6 bzw. 1—4 und im Text mit Z. 1 usw. bezeichnet) weisen an beiden Seiten je eine 3×4 cm große Öffnung auf, die von der entsprechenden Membran verdeckt ist. Die Elektrodenzellen (nicht numeriert) besitzen jeweils eine Öffnung. Das Arbeitsvolumen jeder Zelle beträgt 30 ml. Für größere präparative Ansätze wird eine größere Membranfläche (6×8 cm) verwendet, dadurch steigt das Arbeitsvolumen auf 100 ml.

Um die Entstehung von freiem Halogen sowie die Bildung von größeren Mengen H^+ und OH^-, für die die AM weniger spezifisch sind[32], zu vermeiden, werden Cu-Elektroden benutzt. Die Kathodenzelle enthält $CuCl_2$ oder $CuSO_4$, wobei Cu abgeschieden wird und das Anion zur Elektroneutralisation des nach Z. 6 einwandernden Kations dient. In der Anodenzelle geht Cu in Lösung und wird durch das aus Z. 1 überführte Anion neutralisiert. Zur Erhöhung der Konvektion wird mit N_2 gerührt; zur Entnahme der Lösungen ist an jeder Zelle ein Ablaßhahn angebracht.

Die p_H-Messungen wurden mit dem Kompensator Typ 148c der Firma Metrohm, Herisau, durchgeführt. Als Elektroden dienten eine hochohmige Glaselektrode, Reihe HA der Firma Schott, Mainz, und eine Kalomelelektrode. Für die potentiometrischen und konduktometrischen Titrationen wurde das p_H-Meter Typ 12 der Firma Knick, Berlin, bzw. das Leitfähigkeitsgerät nach JANDER-PFUNDT der Firma Ruhstrat, Göttingen, benutzt. Für die photometrischen Messungen wurde das WEKA-Photozellen-Colorimeter der Firma Kauhausen, Berlin, verwendet. Es wurden, wenn nicht anders angegeben, stets p.a.-Substanzen benutzt. Sämtliche angeführten Werte stellen das Mittel aus mindestens 2 übereinstimmenden Messungen dar.

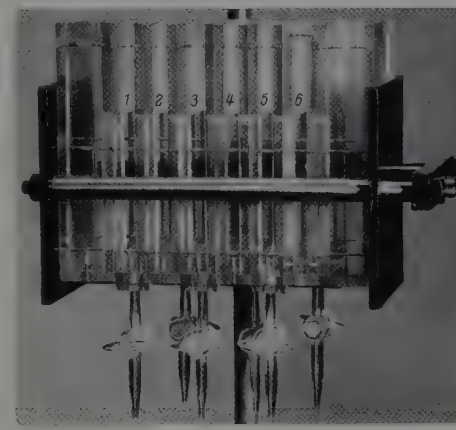


Abb. 1. Ansicht der Elektrodialysenapparatur

Für die Versuche wurden stark saure und stark basische AM, Permaplex C 10 und A 10, der Permutit Co. Ltd., London, verwendet[42]. Ferner wurden schwach saure KAM C 1 und schwach basische AAM, A 1 und A 2, die in Zusammenarbeit mit der Permutit AG., Berlin, hergestellt wurden, benutzt (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1. *Eigenschaften der verwendeten AM*

Sorte	H_2O-Geh. %	R mval/ml	stark bas. %	D ml/cm²·h·Atm.	d Dicke 10^{-2} cm
A 1	49,4	0,27	12	0,20	1,44
A 2	43,9	0,79	17	0,27	1,29
A 10	44,5	2,65	—	0,3[42]	5
C 1	24,6	2,81	—	0,22	1,06
C 10	40,6	3,35	—	0,3[42]	5

Die geringen Basizitätsunterschiede der schwach basischen AAM erklären sich durch einen unterschiedlichen Amingehalt. Der Wassergehalt wurde durch Trocknen über P_2O_5 bei 100°C im Vakuum, die Kapazität R durch K^+-H^+- bzw. Cl^--SO_4^{2-}-Austausch, die Wasserdurchlässigkeit D nach der Methode von BJERRUM[3] ermittelt. Zur Basizitätsbestimmung wurde nach FISHER[8] verfahren.

Die Elektrodialysen wurden mit einer konstanten Außenspannung von 14,5 Volt durchgeführt, dadurch wird einerseits eine genügend große Stromstärke gewährleistet und andererseits eine Erwärmung der Lösungen und der AM vermieden. Die Versuche wurden je nach der Anfangskonzentration bei einer Stromstärke von 5—10 mA abgebrochen, da dann der Gehalt in den Ausgangszellen auf weniger als 0,5% abgesunken ist[31]. Als Kriterium für die Überführung wird die Überführungszahl n der Anionen und Kationen durch die AM angesehen. Da eine direkte Messung während der Elektrodialyse nicht möglich ist, und sich n infolge der veränderlichen Konzentration laufend ändert, wird n auf die aus der Vergleichszelle 1 entfernte Cl-Menge Δ Cl (1) bezogen. In analogen Fällen bedeuten Δ (1), Δ (2) usw. die Konzentrationsänderung in den Zellen 1, 2 usw. Um die Wasserüberführung[46] aus der Berechnung zu eliminieren, werden stets die Mengen in mval anstelle der Konzentrationen angegeben.

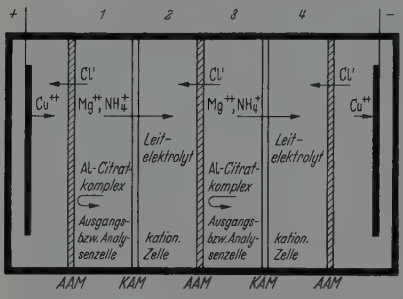


Abb. 2. Arbeitsschema

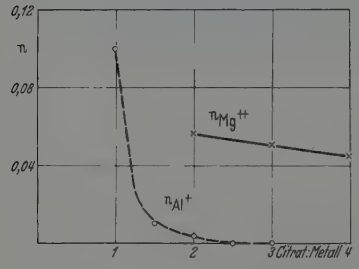


Abb. 3. n_{Mg} und n_{Al} in Einzelversuchen

B. Versuche und Ergebnisse

1. Trennung auf Grund verschiedener Komplexbeständigkeit, Al^{3+}—Mg^{2+}

Während Al^{3+} bereits im Neutralen Citratkomplexe bildet, treten anionische Mg-Citrat-Komplexe erst im alkalischen Medium auf[34]. Außerdem werden Al-Citrat-Komplexe an schwach basischen Austauschern nicht gebunden[36]. Gute Ergebnisse wurden mit Ammoniumcitrat p_H 7,5 erhalten. Zur Anwendung gelangten schwach basische und schwachsaure AM in der 6 Zellen-Apparatur (vgl. Arbeitsschema: Abb. 2).

Die Ergebnisse von Einzelversuchen sind aus Abb. 3 ersichtlich.

Bei einem Al^{3+}-Citratverhältnis 1:2 sinkt n_{Al} praktisch auf Null ab. Auch bei einem 10fachen Citratüberschuß sind keine Anzeichen für anionische Mg-Komplexe erkennbar. Dementsprechend liegt Mg^{2+} noch in kationischer Form vor und wird quantitativ durch die KAM übergeführt. Al existiert bereits als anionischer oder Neutralkomplex und verbleibt quantitativ in der Ausgangszelle. Z. 1 und Z. 3 dienen zur Aufnahme der Ausgangslösungen, Z. 2 und Z. 4 zur Aufnahme des abgetrennten Mg^{2+}. Zu den Analysenlösungen werden für jedes mval Al^{3+}

2 mval Ammoniumcitrat zugefügt. Bei unbekanntem Al^{3+}-Gehalt muß eine größere Citratmenge verwendet werden, die jedoch n_{Mg} nur geringfügig beeinflußt. Die übrigen Zellen enthalten 0,1 n KCl-Lösung (vgl. Tab. 2).

Tabelle 2. *Mg^{2+}-Al^{3+}-Trennung*

Nr.	gegeben		gefunden in				Fehler in			
	Mg^{2+}	Al^{3+}	(2) Mg^{2+}	(4) Mg^{2+}	(1) Al^{3+}	(3) Al^{3+}	(2) Mg^{2+}	(4) Mg^{2+}	(1) Al^{3+}	(3) Al^{3+}
	mg		mg				%			
1	12,1	32,9	12,2	12,2	33,1	32,9	0,6	0,8	0,6	0
2	12,1	8,2	12,0	12,0	8,2	8,3	1,0	1,2	0,1	1,0
3	24,2	8,2	24,2	24,3	8,4	8,3	0,3	0,3	1,7	0,8
4	72,8	8,2	73,5	73,1	8,1	8,2	1,0	0,5	1,2	0,7

Die Fehler der Analysen betragen im Durchschnitt 0,7% und werden zur Hauptsache durch die Fehlergrenzen der analytischen Einzelbestimmung bedingt.

Zur analytischen Einzelbestimmung werden die Mg^{2+}-Lösungen erst mit Salzsäure auf p_H 2 gebracht, sodann wird in der Kälte Oxychinolin zugefügt. Nach dem Erhitzen auf 60° C wird Ammoniaklösung bis p_H 8—9 zugegeben und weiter bis zum Sieden erhitzt. Erst nach dem Erkalten erfolgt weiterer Ammoniakzusatz. Zur Bestimmung von Al^{3+} wird die Lösung mit Salzsäure bis p_H 1—2 versetzt und nach dem Oxinzusatz auf etwa 70° C erwärmt. Sodann wird Ammoniak bis zu einem p_H-Wert von 6—6,5 zugefügt und einige Zeit erkalten gelassen.

2. Trennung auf Grund verschiedener Aggregation, Molybdat-Wolframat

Die Aggregation des Molybdats beginnt bei p_H 6,5[24], während die des Wolframats bereits bei p_H 8 einsetzt[21]. Bei Verwendung schwach basischer AAM werden die aggregierten Ionen infolge ihrer geringen Ladung je Mo- bzw. W-Atom und ihrer geringen Acidität schwierig oder nicht übergeführt. Wegen des engen p_H-Bereiches müssen Puffersubstanzen verwendet werden, die jedoch auch keine Komplexe mit den Metallaten bilden. Um einen bestimmten p_H-Wert einzuhalten und die Stromausbeute nicht zu belasten, darf ferner die Puffersubstanz im Verlauf der Elektrodialyse nicht nennenswert übergeführt werden. Allgemein werden Boratpuffer verwendet, für p_H 7 jedoch Veronalpuffer[33]. Sowohl n_{Mo} als auch n_W sind bei Veronalpuffern wegen der gleichzeitigen Veronalüberführung kleiner als bei Boratpuffern. Auf Grund der n_W-Werte scheidet bei Borat die Existenz von W-Boratkomplexen aus. Die Berechnung erfolgt bei allen Versuchen auf der Grundlage von MoO_4^{2-} und WO_4^{2-}.

Um Parallelanalysen durchführen zu können, wurde die 8 Zellen-Apparatur benutzt.

In Vorversuchen (s. Arbeitsschema: Abb. 4) wurden in Z. 3 und Z. 5 je 10, in Z. 2 und Z. 4 je 5 ml Puffer vorgegeben. Bei den schwach basischen AAM (Abb. 5 gibt das Verhalten von A 1 wieder) erreicht n_{Mo} bei p_H 8—7,6 ein Maximum. Im alkalischen Medium besitzen diese AAM nur geringe Austauscherwirkung. Erst in der Nähe des Neutralpunkts beginnt der Austausch und damit eine nennenswerte Überführung. n_W ist durchweg kleiner als n_{Mo}. Sobald ein p_H-Wert erreicht wird, bei dem die Aggregation merklich wird, sinkt n_{Mo} bzw. n_W ab.

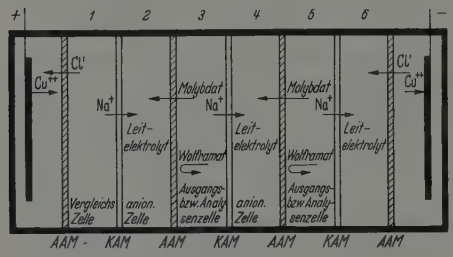


Abb. 4. Arbeitsschema

Bei stark basischem A 10 ist die Überführung wesentlich größer (Abb. 6) und erreicht bei pufferfreien Lösungen einen Wert von etwa 1.

Für n_W tritt wie für Molybdat bei p_H 9 ein leichtes Minimum auf, da hier der elektrolytreichste Puffer vorliegt. Bei p_H 7,6 wirkt sich jedoch die Aggregation als Erniedrigung der Ladung je W-Atom aus.

Mo-Elektrodialysen mit A 1 bei wechselnden Puffermengen von p_H 8

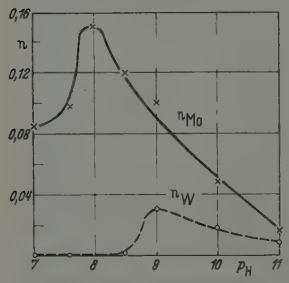


Abb. 5. n_{Mo} und n_W für A 1

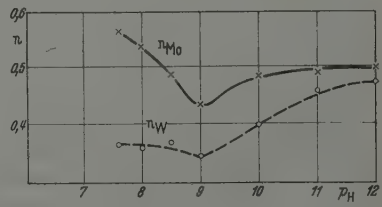


Abb. 6. n_{Mo} und n_W für A 10

ergeben eine annähernde p_H-Konstanz nur bei Anwesenheit von 10 ml Puffer von doppelter Konzentration in Z. 3 und Z. 5. Da in Z. 4 auch 20 ml Puffer den p_H-Wert nicht aufrecht erhalten können, ist hier ein p_H 8,5-Puffer verwendet worden.

Bei gleichzeitiger Elektrodialyse von Molybdat und Wolframat treten infolge der durch Aggregation der einzelnen Metallate bedingten p_H-Verschiebungen auch innerhalb der Membran Komplikationen auf. Die Stromstärke ist größer als bei reinen Mo-Analysen, da auch Na^+ und entsprechend OH^- der WO_4^{2-}-Lösung zum Stromtransport beitragen.

n_{Mo} ist jedoch kleiner als bei reinen Mo-Analysen, da jetzt auch noch zusätzlich OH^- bevorzugt vor Molybdat abwandert. Diese Erscheinung kann demnach nicht als ein Zeichen für eine Blockierung der AAM durch aggregiertes Wolframat angesehen werden. Wegen der zusätzlichen OH^--Überführung waren hier auch andere Pufferlösungen zu verwenden, als sich aus den Vorversuchen ergeben hatte. Eine Blockierung der AAM tritt dagegen anscheinend auf, wenn der p_H-Wert unter 6 absinkt, das gesamte Wolframat also aggregiert ist.

Am günstigsten erwiesen sich für die Trennungen die schwach basische AAM A 1 und der Boratpuffer nach SÖRENSEN in doppelter Konzentration. Z. 3 und Z. 5 enthalten die Analysenlösungen und je 10 ml Puffer p_H 8,5; Z. 2 und Z. 4 je 10 ml Puffer p_H 8 (vgl. Tab. 3).

Tabelle 3. *Trennung Molybdat-Wolframat*

Nr.	gegeben		Dauer	gefunden				Fehler			
	Mo	W		Mo in		W in		Mo in		W in	
	mg		min	(2)	(4)	mg (3)	(5)	(2)	(4)	% (3)	(5)
1	96,3	18,3	228	96,7	96,1	18,2	18,2	0,4	0,2	0,5	0,5
2	48,2	91,6	186	47,6	47,9	90,6	90,4	1,2	0,6	1,0	1,2
3	48,2	45,8	191	47,7	47,8	45,1	45,2	1,1	0,9	1,4	1,2
4	48,2	18,3	197	47,6	47,5	18,1	18,1	1,2	1,4	1,0	1,0
5	24,1	91,6	183	24,1	24,0	91,6	91,2	0	0,4	0	0,4
6	24,1	45,8	176	23,9	23,8	45,8	45,4	0,8	1,2	0	0,8
7	24,1	18,3	202	23,8	23,9	18,0	18,1	1,2	1,0	1,5	1,0
8	9,6	183,2	198	9,6	9,5	181,8	182,0	0,5	0,5	0,7	0,6
9	9,6	91,6	176	9,6	9,5	91,0	91,3	0,5	0,5	0,6	0,4
10	9,6	45,8	154	9,5	9,5	45,4	45,3	0,5	0,5	0,8	1,0
11	9,6	18,3	182	9,6	9,7	18,0	18,2	0,5	1,5	1,5	0,5

Zur Molybdatbestimmung wurde nach eingehenden Untersuchungen die Rhodanidmethode[19] den vorliegenden Bedingungen gemäß etwas abgeändert. *Vorschrift:* Zur Messung dient das Filter BG 7. Man füllt die Analysenlösung auf 70 ml, versetzt mit 15 ml Salzsäure (1:1), 6 ml 20%iger KSCN-Lösung, 2 ml 10%iger $SnCl_2$-Lösung in 2 n Salzsäure, ergänzt auf 100 ml und mißt sofort in der 20 ml-Küvette. Zur W-Bestimmung wurde die Hydrochinonmethode[5] ebenfalls abgeändert. *Vorschrift:* Man ergänzt die Analysenlösung auf 40 ml, fügt 5 ml 60%ige Schwefelsäure, 2 ml Phosphorsäure, 2 ml 10%ige $SnCl_2$-Lösung in 2 n Salzsäure zu und füllt auf 50 ml auf. Davon entnimmt man 2 ml, versetzt mit 5 ml 5%iger Hydrochinonlösung und mißt nach 20 min in der 10 mm-Küvette unter Verwendung des Filters BG 7.

3. Anreicherung auf Grund verschiedener Aggregation, Molybdat-Wolframat

Das Aggregationsmaximum des Molybdats liegt bei p_H 0,9[23], während das des Wolframats bei p_H 1,5 auftritt[20]. Bei größeren Säurestärken liegen kationische Komplexe vor[25]. Da in diesem sauren Medium die schwach basischen AAM ihre Austauscheigenschaften zum Teil verlieren und größere elektrische Widerstände bilden, wurden die Versuche mit den

Permaplex-Membranen und der 8 Zellen-Apparatur durchgeführt. Als Zusatz, der eine weitere Verarbeitung der Produkte nicht erschwert, kommt hier nur Salzsäure in Frage, deren Menge infolge der p_H-Verschiebung durch Mo- und W-Anwesenheit empirisch zu ermitteln war (Arbeitsschema vgl. Abb. 4, S. 174).

Es wurde stets 0,4 n Salzsäure verwendet, um möglichst große Volumina der Ausgangslösung benutzen zu können. Die Berechnung von n erfolgte wieder auf der Grundlage von MoO_4^{2-} und WO_4^{2-} (vgl. Kap. 2, S. 173). Wird in allen Zellen Säure vorgegeben, so sinkt n_{Mo} infolge der Aggregation ab. Außerdem sinkt n_{Mo} mit wachsendem H^+-Gehalt. Cl^- wird anscheinend erst nach oder zumindest zusammen mit dem Molybdat übergeführt, da dieses bei stark basischen Austauschern keine größere Selektivität als MoO^{2-} besitzt[28]. Erst bei Verwendung von 9 ml 0,4 n Salzsäure in Z. 3 und Z. 5 sinkt n_W soweit ab, daß eine Trennung unter diesen Bedingungen sinnvoll erscheint. Hier dient die Säure hauptsächlich zur Aggregation und wird nicht bevorzugt übergeführt (vgl. Kap. 7, S. 185). Da eine größere Menge Molybdat und Wolframat aggregiert in der AAM verbleibt, werden Z. 2—5 nach der Elektrodialyse 40 min mit je 30 ml 0,1 n Natronlauge ausgelaugt.

Bei Reinigungselektrodialysen mit je 9 ml 0,4 n Salzsäure in Z. 3 und Z. 5, d. h. 0,12 n Salzsäure bezogen auf das Gesamtvolumen, beträgt die größte Abweichung der Summenwerte 0,8%. Wegen der gleichzeitigen Anwesenheit von Wolframat steigt der p_H-Wert in Z. 3 und Z. 5, so daß auch beträchtliche Wolframatmengen übergeführt werden, obwohl auch die Molybdat-Überführung nicht quantitativ ist. Bei Anwendung von je 15 ml 0,4 n Salzsäure in Z. 3 und Z. 5, entsprechend 0,167 n, wird Molybdat nur zu 85—90% übergeführt, gleichzeitig jedoch noch 1—3% Wolframat. Die p_H-Endwerte sind durchweg kleiner als bei den Versuchen mit 0,12 n Salzsäure. Deshalb tritt zum Teil im Verlauf des Versuchs ein WO_3-Niederschlag auf, der Molybdat mitreißt. Die Aggregation in der AAM ist hier so groß, daß 30 ml 0,1 n Natronlauge nicht mehr zur Elution genügen. Als beste Methode hat sich deshalb die Zugabe von 12 ml 0,4 n Salzsäure zu 20—22 ml Lösung erwiesen. Entsprechend den Vorversuchen ist in Z. 3 und Z. 5 durch Zugabe von Salzsäure ein p_H-Wert von 1,0—1,2 einzustellen (vgl. Tab. 4).

Die gegenseitige Verunreinigung ist entsprechend der Methode sehr unterschiedlich, da bei Molybdat-Überschuß kaum Wolframat abwandert, während bei Wolframat-Überschuß auch dieses in beträchtlichen Mengen übergeführt wird. Insgesamt erfolgt eine 20- bis 50fache Anreicherung. Entscheidend für das Gelingen der Trennung ist offenbar der p_H-Anfangswert, wie sich aus p_H-Messungen der Ausgangslösungen und den Einzelversuchen ergibt. Weiterhin basiert das Gelingen der Trennung auf der Tatsache, daß WO_3 trotz eines p_H-Anfangswertes von 1—1,2 nur

Tabelle 4. *Reinigung von Mo und W*

Nr.	gegeben		gefunden in (2)		(3)		(4)		(5)		Dauer
	Mo	W	Mo	W	Mo	W	Mo	W	Mo	W	
	mg		mg		mg		mg		mg		min
1	96,8	18,6	96,0	0,9	1,8	17,5	93,9	0,9	2,1	16,8	152
2	48,4	93,1	47,6	3,7	1,0	91,1	47,2	2,8	0,9	89,2	134
3	48,4	46,5	47,9	2,9	0,3	42,7	46,7	1,1	1,5	45,1	124
4	48,4	18,6	46,9	0,9	1,4	17,1	47,2	0,9	0,8	16,8	116
5	24,2	93,1	23,7	2,8	0,5	91,0	23,2	2,2	0,7	88,6	133
6	24,2	46,5	23,9	1,8	0,2	43,7	23,2	1,1	0,8	43,5	126
7	24,2	18,6	23,7	0,9	0,8	17,2	23,4	0,9	0,9	17,0	114
8	9,7	186,1	9,4	9,7	0,5	173,4	9,1	6,1	0,5	174,3	143
9	9,7	93,1	9,4	4,4	0,5	86,7	9,2	3,3	0,3	90,6	118
10	9,7	46,5	9,2	1,5	0,4	43,4	9,6	0,9	0,1	46,9	112
11	9,7	18,6	9,5	0,9	0,3	17,5	9,1	0,9	0,4	15,6	119

langsam ausfällt[22], so daß die Reinigung bereits beendet ist, bevor eine WO_3-Hydrat-Ausscheidung einsetzt. Analog geht die Entaggregation des Wolframats nur langsam vonstatten, so daß auch p_H-Verschiebungen während der Elektrodialyse keinen überaus großen Einfluß ausüben.

4. Reinigung auf Grund verschiedener Wanderungsgeschwindigkeit, Cu^{2+}—H^+

Die Beweglichkeit der Kationen in der KAM kann erhebliche Unterschiede gegenüber der freien Lösung aufweisen. Insbesondere sinkt die Beweglichkeit mehrwertiger Kationen beträchtlich ab[2]. Es wurden schwach saure KAM verwendet, da H^+ zu schwach sauren Austauschern eine größere Selektivität besitzt[6], so daß die Trennwirkung vergrößert wird. Die 6 Arbeitszellen der 8 Zellen-Apparatur waren voneinander durch KAM C 1 getrennt, zum Abschluß der Elektrodenzellen dienten wegen der größeren Leitfähigkeit AAM der Charge A 2. Z. 1 enthielt die Ausgangslösung, jeweils 2 mval H^+ und 2 mval Cu^{2+}. Zur Kontrolle des jeweils erzielten Trenneffektes wurde nach bestimmten Coulomb-Zahlen der Gehalt der Einzelzellen ermittelt. Im praktischen Fall kann der jeweils rein gewonnene Anteil kontinuierlich abgezogen werden. Als Leitelektrolyt in Z. 2—6 dient KCl verschiedener Konzentration (0,1 n; 0,067 n sowie 0,033 n). Wie Vorversuche zeigten, ist zur besseren Trennung auch in Z. 1 ein Zusatzelektrolyt günstig, dessen Überführungszahl zwischen der des schneller und der des langsamer wandernden Ions liegt, wobei sich ebenfalls K^+ als günstig erwies. Prinzipiell können mit diesem Verfahren 3 Ziele erreicht werden: 1. Anreicherung des schneller wandernden Teils; 2. Anreicherung des langsamer beweglichen Teils; und

3. Gewinnung beider Anteile. Zur Kennzeichnung der erzielten Reinigung wird die Verstärkung (Verst.) berechnet als

$$\text{Verst.}_{H} = c_H/c_{Cu} \text{ bzw. } \text{Verst.}_{Cu} = c_{Cu}/c_H$$

wobei die Anfangskonzentration $c_H/c_{Cu} = 1$ ist.

Als Anreicherung (Anr.) werden die Prozente der Ausgangsmenge in den jeweiligen Zellen bestimmt.

$$\text{Anr.}_{H} = 100 \cdot c_H/c_{H\,ges.} \text{ bzw. } \text{Anr.}_{Cu} = 100 \cdot c_{Cu}/c_{Cu\,ges.}.$$

Im allgemeinen wird jedoch eine möglichst große Menge in möglichst großer Reinheit zu gewinnen sein. Als absoluter Trenneffekt wird demnach definiert:

$$T = \text{Verst.} \cdot \text{Anr.}$$

Als Beispiel sind die Cu^{2+}- und H^+-Gehalte in den Einzelzellen bei 0,1 n Leitelektrolyt in Abb. 7 dargestellt.

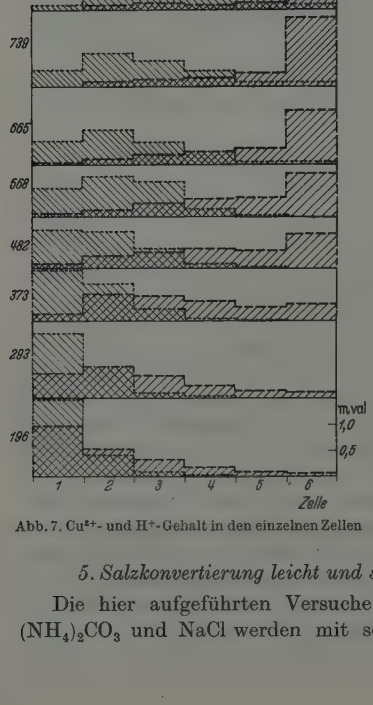


Abb. 7. Cu^{2+}- und H^+-Gehalt in den einzelnen Zellen

Der beste Trenneffekt für den Anteil mit der größeren Überführung H^+ wird mit 0,1 n Leitelektrolyt und bei Vereinigung von Z. 5 und Z. 6 erzielt, da einerseits die Verstärkung groß ist und durch Zusammenfassung beider Zellen ein relativ großer Anteil der gesamten H^+-Menge erfaßt wird. Die besten Werte für den absoluten Trenneffekt des weniger beweglichen Anteils Cu^{2+} werden mit 0,067 n Leitelektrolyt bei Verwendung von Z. 1 und Z. 2 erreicht. Ganz allgemein ist der Bestandteil mit der kleineren Wanderungsgeschwindigkeit schwieriger rein zu erhalten, was auch in der Differenz der T-Werte von H^+ und Cu^{2+} zum Ausdruck kommt. Cu^{2+} wird komplexometrisch[37] bestimmt.

5. Salzkonvertierung leicht und schwer löslicher Verbindungen

Die hier aufgeführten Versuche zur Darstellung von Na_2CO_3 aus $(NH_4)_2CO_3$ und NaCl werden mit schwach bzw. stark basischen und

schwach bzw. stark sauren AM und der 8 Zellen-Apparatur durchgeführt (Arbeitsschema, vgl. Abb. 8). Z. 1 enthält NaCl, Z. 2 Na_2CO_3 als Leitelektrolyt und Z. 3 $(NH_4)_2CO_3$ wechselnder Konzentration. In Z. 4 wird NH_4Cl, in Z. 5 und Z. 6 NaCl vorgegeben. (Siehe auch Tab. 5.)

Tabelle 5. *Na_2CO_3-Darstellung mit Permaplex-Membranen*

$(NH_4)_2CO_3$ Konz. in (4)	CO_3^{2-}	HCO_3^-	ΔC	CO_3^{2-}	HCO_3^-	OH^-	ΔC	Coul.		n_{HCO_3}	n_{OH}
	Δ (2) 10^{-1} mval			Δ (3) 10^{-1} mval				gef.	ber.		
1 n	35,7	38,6	56,4	80,0	16,4	5,0	56,4	737	717	0,77	0,23
0,5 n	43,9	25,0	46,9	77,0	8,2	9,5	46,7	697	664	0,67	0,30
0,25 n	45,0	18,7	41,2	74,7	4,1	12,5	41,5	644	614	0,64	0,33
0,1 n	22,0	5,0	16,0	28,8	1,6	2,4	16,0	292	260	0,55	0,36

Wegen der wechselseitigen Umwandlung von CO_3^{2-} in HCO_3^- ist die Änderung in Z. 2 und Z. 3 auf Mole C bezogen. Bei einem Vergleich der für den entsprechenden Vorgang errechneten mit der gefundenen Coulomb-Zahl ergibt sich, daß eine Überführung als HCO_3^- stattfindet. Bei der Bindung von CO_3^{2-} am Austauscher wird OH^- frei, das ebenfalls übergeführt wird und in Z. 2 wieder zur Bildung von CO_3^{2-} beiträgt. Der Umstand, daß $n_{HCO_3} > n_{OH}$ ist, steht in Übereinstimmung mit der Bindungsfestigkeit an stark basischen Austauschern[15].

Bei Verwendung von schwach basischen AAM wird HCO_3^- als stärker saures Ion leichter als CO_3^{2-} übergeführt. Der geringe Wert von n_{HCO_3}, der nur $^1/_{10}$ gegenüber den Versuchen mit A 10 beträgt, ist durch die geringe Basizität der AAM zu erklären.

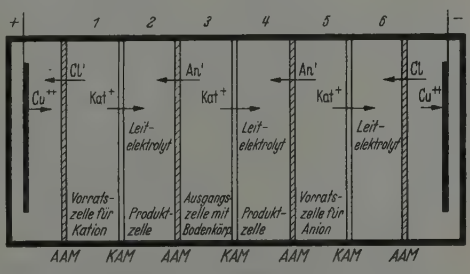


Abb. 8. Arbeitsschema

Die in der Zeiteinheit gebildete Na_2CO_3-Menge nimmt wegen der größeren Stromstärke mit steigender $(NH_4)_2CO_3$-Konzentration in Z. 3 zu, jedoch steigt dabei gleichzeitig der prozentuale HCO_3^--Gehalt.

Bei dieser Darstellung von Na_2CO_3 kann als CO_3^{2-}-Komponente festes $CaCO_3$ verwendet werden, so daß die Herstellung von $(NH_4)_2CO_3$ entfällt. Zur Rührung dient hier CO_2, um gleichzeitig die größere Löslichkeit des $Ca(HCO_3)_2$ auszunutzen[35]. Als Überführungsmechanismus ist hier offenbar die Bindung als HCO_3^- anzunehmen. Als Mittelwert aus den Daten, die sich aus der Überführung des Anions und des Kations errechnen,

ergibt sich, daß etwa 60 mg $CaCO_3$ je Stunde in Lösung gebracht und übergeführt werden. Bei analogen Versuchen mit schwach basischen AAM der Charge A 2 ist n_{HCO_3} größer als bei den Versuchen mit $(NH_4)_2CO_3$, da in der CO_2-gesättigten Lösung ein kleinerer p_H-Wert herrscht. n_{Ca} ist größer als n_{HCO_3}, da Ca^{2+} relativ stärker basisch ist, als HCO_3^- saure Eigenschaften aufweist.

Wegen des grundlegenden Charakters der hier beschriebenen Untersuchungen zur Konvertierung schwer löslicher Verbindungen wurde eine Reihe fallender Löslichkeit ausgewählt. Es wurden die 8 Zellen-Apparatur sowie stark basische und stark saure AM benutzt. Die Ausgangssubstanz wird im Überschuß in Z. 3 vorgegeben, Z. 2 und Z. 4 enthalten als Leitelektrolyt die zu bildenden Salze. Infolge der Abwanderung von Anion und Kation wird das Gleichgewicht Bodenkörper-Lösung laufend gestört, so daß eine fortdauernde Auflösung vonstatten geht. Die Stromstärke des gesamten Systems wird durch die Stelle der geringsten Leitfähigkeit bestimmt. Bei höher konzentrierten Lösungen ist die Leitfähigkeit der Lösung größer als die der AM, während bei verdünnten Lösungen die AM infolge der Beweglichkeit der an die Festgruppen gebundenen Ionen eine größere Leitfähigkeit besitzt[31] (vgl. Tab. 6).

Tabelle 6. *Überführung schwer löslicher Substanzen*

Substanz	Löslichkeitsprodukt L	Sättigungskonzentration c mval/ml	übergeführte Menge 10^{-1} mval/Std	Kation mg/Std	Salz mg/Std	$i_{max.}$ mA	$n_{Kat.}$
$PbCl_2$	$2{,}1 \cdot 10^{-5}$	$2{,}2 \cdot 10^{-2}$	12,8	133	178	121	0,32
$CaSO_4$	$6{,}1 \cdot 10^{-5}$	$2{,}0 \cdot 10^{-2}$	30,2	60	196	106	0,93
TlCl	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-2}$	7,2	147	179	32	0,78
$MgCo_3$	$1{,}0 \cdot 10^{-5}$	$6{,}3 \cdot 10^{-3}$	5,5	6,7	23	20	0,71
$MgHPO_4$	$3{,}0 \cdot 10^{-7}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	5,0	6,1	30	32	0,46
$PbSO_4$	$1{,}1 \cdot 10^{-8}$	$2{,}9 \cdot 10^{-4}$	2,4	24,6	36	20	0,36
$CaCO_3$	$8{,}0 \cdot 10^{-9}$	$9{,}0 \cdot 10^{-5}$	1,1	2,2	5	6	0,58
$Ca_3(PO_4)_2$	$1{,}7 \cdot 10^{-10}$	$2{,}6 \cdot 10^{-5}$	0,9	1,9	5	7	0,39
AgCl	$1{,}3 \cdot 10^{-10}$	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$	0	0	0	14	0

Bei intensivster Rührung und erhöhter Temperatur sind in den meisten Fällen sicher noch bessere Werte zu erhalten. Insgesamt zeigt sich, daß die in 1 Std übergeführten mval etwa der Konzentration der gesättigten Lösung parallel gehen. Die Grenze der Methode ist bei einer Sättigungskonzentration von 10^{-5} erreicht. Die analogen Erscheinungen treten bei der Darstellung verschiedener Co-Komplexverbindungen auf (vgl. Kap. 6). Berücksichtigt man beim $PbCl_2$ auch n_{Cl}, so ordnet sich dieses ebenfalls in die Reihe fallender Konzentration ein. Die geringen Unterschiede in der Überführung von $MgCO_3$ und $MgHPO_4$, sowie

$CaCO_3$ und $Ca_3(PO_4)_2$ trotz der erheblich größeren Löslichkeitsdifferenzen sind sicherlich auf das geringe n_{CO_3} zurückzuführen (vgl. Kap. 7, S. 185).

Bei Elektrodialysen mit $PbCl_2$ ist n_{Pb} wie bei den Versuchen mit $PbSO_4$ relativ klein. Es kann daher angenommen werden, daß die Überführung des Pb^{2+}-Ions die Überführungsgeschwindigkeit bestimmt. Deshalb ist auch $n_{Cl} < 1$ (vgl. Kap. 6). Ähnlich wie beim $PbCl_2$ und TlCl beweisen die überführten $CaSO_4$-Mengen und die Stromstärke, daß die Elektrolysen wie mit leicht löslichen Salzen verlaufen. n_{Mg} ist bei Versuchen mit $MgCO_3$ noch relativ groß im Vergleich zu Versuchen mit $MgHPO_4$. Die übergeführte Kationmenge ist bei $PbSO_4$ gegenüber $PbCl_2$ beträchtlich kleiner und beträgt nur etwa $^1/_5$. Die Überführungszahl ist jedoch etwas größer, da die Stromstärke kleiner ist und außerdem auch $n_{SO_4} < n_{Cl}$ (vgl. Kap. 7), so daß das Kation jetzt relativ zum Anion besser übergeführt wird. $Ca_3(PO_4)_2$ hydrolysiert in wäßriger Lösung teilweise zu $CaHPO_4$[29], für das $L = 2{,}8 \cdot 10^{-6}$ und $c = 3{,}5 \cdot 10^{-3}$ n beträgt. Im löslichen $Ca(H_2PO_4)_2$ beträgt n_{Ca} dagegen 0,83—0,85. Die etwas größere Cl^--Überführung bei den Versuchen mit AgCl läßt auf eine leichte Behinderung der Ag^+-Überführung schließen.

Ein ausgewähltes Beispiel bildet die Darstellung von $TlNO_3$ aus TlCl (vgl. Tab. 7).

Tabelle 7. *Darstellung von $TlNO_3$*

ΔCl^-	Cl^-	Cl^-/Std	n_{Cl}	Tl^+	Tl^+/Std	n_{Tl}	Tl^+	$TlNO_3$
(1)	Δ (2)			Δ(4)			mg/Std	
10^{-1} mval				10^{-1} mval				
9,4	7,7	7,7	0,82	7,1	7,1	0,76	145	189,0
14,6	12,0	7,8	0,82	11,4	7,3	0,78	149	194,5
18,3	15,1	7,6	0,83	14,3	7,2	0,78	147	192,0
22,8	19,4	7,8	0,85	18,0	7,2	0,79	147	192,0

Je Stunde werden hier etwa 190 mg $TlNO_3$ gebildet. n_{Cl} ist stets größer als n_{Tl}, da die Tl^+-Überführung analog der Ag^+- und Pb^{2+}-Überführung offenbar durch eine große Selektivität der KAM infolge Ionenpaarbildung[17] herabgesetzt wird.

Mg^{2+}, Ca^{2+} sowie Pb^{2+} wurden komplexometrisch[38,39,41], Ag^+ wurde nach Volhard, Tl^+ als Tl_2CrO_4[43] bestimmt.

6. Darstellung von Co-Komplexverbindungen

Ähnliche Untersuchungen mit Ionenaustauschersäulen wurden von D'Ans, Blasius, Guzatis u. Wachtel[7] durchgeführt. Der direkte Austausch über eine bestimmte Beladungsform des Austauschers ist oft wegen der Bindungsfestigkeit[45] des neu einzuführenden Ions erschwert. Bei den anderen bisher üblichen Verfahren[11] zur Darstellung dieser Verbindungen besteht stets die Gefahr, daß auch die koordinativ gebundene Gruppe ersetzt wird, da ein Überschuß des neu einzuführenden Ions angewendet werden muß. Außerdem ist eine geringe Verunreinigung des Produkts nicht zu vermeiden, da die Kristallisation in Gegenwart des

ersetzten Ions vonstatten geht. Die Versuche wurden mit stark basischen und stark sauren AM und der 8 Zellen-Apparatur ausgeführt (Arbeitsprinzip vgl. Abb. 8). Da die Löslichkeit der Ausgangssubstanzen oft sehr gering ist, wird in Z. 3 die Verbindung in fester Form im Überschuß vorgelegt. Aus Z. 5 wird das entsprechende Anion übergeführt. In Z. 4 wird als Leitelektrolyt ein Alkalisalz mit dem gleichen Anion vorgegeben, um eine Verunreinigung zu vermeiden.

Eine Gegenüberstellung der Löslichkeit[30] der verschiedenen Komplexe und der Überführungszahl, der maximalen Stromstärke und der übergeführten Menge zeigt, daß diese Größen im allgemeinen parallel verlaufen. Es ist daher anzunehmen, daß hier derselbe Überführungsmechanismus wie bei den schwer löslichen Verbindungen (vgl. Kap. 5) vorliegt (vgl. Tab. 8).

Tabelle 8. *Elektrodialyse von* $[Co(NH_3)_5Cl]X_2$- *und* $[Co(NH_3)_5Br]X_2$-*Salzen*

Substanz	Löslichkeit 10^3 m	I_m mA	$n_{Kat.}$	Substanz	Löslichkeit 10^3 m	I_m mA	$n_{Kat.}$
$[Co(NH_3)_5Cl](ClO_4)_2$	92	66	0,38	$[Co(NH_3)_5Br](ClO_4)_2$	84	73	0,34
$[Co(NH_3)_5Cl](NO_3)_2$	46	52	0,32	$[Co(NH_3)_5Br]SO_4$	25	56	0,27
$[Co(NH_3)_5Cl]J_2$	46	50	0,30	$[Co(NH_3)_5Br]Cl_2$	11	55	0,22
$[Co(NH_3)_5Cl]CO_3$		41	0,54	$[Co(NH_3)_5Br](NO_3)_2$	10	40	0,24
$[Co(NH_3)_5Cl]SO_4$	34	30	0,27	$[Co(NH_3)_5Br]J_2$	10	32	0,26
$[Co(NH_3)_5Cl]Cl_2$	18			$[Co(NH_3)_5Br]Br_2$	6		
$[Co(NH_3)_5Cl]Br_2$	16	11	0,20				

Für die Löslichkeit des Chlorocarbonats existieren keine quantitativen Angaben. Jedoch ist auf Grund der geringen CO_3^{2-}-Überführung (vgl. Kap. 7) und wegen der schwierigen Fällbarkeit anzunehmen, daß diese noch größer als die des Perchlorats ist.

a) Konstitution der aus $[Co(NH_3)_5Cl]Cl_2$ über Säulenaustauscher entstehenden Verbindungen.

Die Darstellung von Chloropurpureosalzen über Ionenaustauscher in der Hydroxydform ist nicht möglich, da die freie Base $[Co(NH_3)_5Cl](OH)_2$ nicht existent ist[12]. Durch Übergabe einer konzentrierten Lösung des Purpureochlorids über Permutit ES (OH) wird jedoch eine freie Base unbekannter Zusammensetzung erhalten. Chlorbestimmungen ergeben, daß auch das komplex gebundene Chlorid ausgetauscht wird. Wird die freie Base sofort nach ihrer Herstellung über Permutit RS (Na^+) gegeben, so erzielt die Titration des im Filtrat auftretenden NaOH 2 ionogene OH^--Ionen.

Zur potentiometrischen und konduktometrischen Titration dienen HCl und $HClO_4$, da ein Austausch des komplex gebundenen Liganden gegen ClO_4^- nicht möglich ist[26]. Bei der potentiometrischen Titration treten 2 deutliche Wendepunkte auf. Die Neutralisation der 1. Stufe

findet bei etwa p_H 7, die der 2. Stufe bei etwa p_H 4 statt. Diese Werte stimmen mit Hydrolysemessungen größenordnungsmäßig überein[26].

Die analogen Äquivalenzpunkte bei der konduktometrischen Titration beweisen, daß die Verbindung $[Co(NH_3)_5OH](OH)_2$ vorliegt. Es werden erst die beiden stark basischen ionogenen Gruppen und sodann das schwächer basische komplex gebundene OH^- neutralisiert. Das komplex gebundene Chlorid wird bereits bei einem kleineren p_H-Wert als die ionogenen Gruppen gegen OH^- ausgetauscht, wie sich aus Versuchen mit teilweise erschöpften Austauschern ergibt. Deshalb ist auch die Darstellung der Purpureosalze über Säulenaustauscher in anderen Beladungsformen in Frage gestellt.

Die Analyse der aus der Base durch Zusatz von $(COOH)_2$ und $(NH_4)_2C_2O_4$ hergestellten Verbindung zeigt, daß das Roseosalz $[Co(NH_3)_5H_2O]_2(C_2O_4)_3 \cdot 4\,H_2O$ entsteht. Demnach können über Harzaustauscher keine Derivate des Chloropurpureochlorides hergestellt werden. Es ist anzunehmen, daß das gleiche für Derivate des Bromobromids gilt.

b) Ersatz des Anions in verschiedenen Co-Ammin-Komplexen.

Die Dauer der Elektrolysen war 2—3 Std, um die Hydrolyse zum Roseosalz klein zu halten. Diese beträgt nach 2 Std etwa 2%[26]. Diese Menge ist praktisch unschädlich, da die Roseosalze löslicher sind als die entsprechenden Purpureosalze[30]. Die Differenz zwischen Auswaage (Ausw.) und Gesamtumsatz (Ges.-Umsatz) erklärt sich aus der unter Umständen schwierigen Fällbarkeit der Substanzen. Die angeführte Reinheit wurde ohne Umkristallisation erhalten (vgl. Tab. 9).

Tabelle 9. *Analyse der* $[Co(NH_3)_5Cl]X_2$*-Salze*

Substanz	Ges.-Umsatz mg	Ausw. mg	Co %	Cl %	Br bzw. J ges. %	Br bzw. J ion. %	ClO_4 bzw. SO_4 %	Val.
$[Co(NH_3)_5Cl](NO_3)_2$	191,0	147,8	19,33	11,59				151,0
		theor.	19,41	11,68				151,8
$[Co(NH_3)_5Cl](ClO_4)_2$	—	465,0	15,42	9,28			52,06	187,7
		theor.	15,58	9,37			52,56	189,2
$[Co(NH_3)_5Cl]J_2$	—	335,8	13,70	8,13	58,00	59,44		212,3
		theor.	13,60	8,18	58,56			216,7
$[Co(NH_3)_5Cl]Br_2$	—	28,2	17,52	10,40	46,85			
		theor.	17,37	10,45	47,11			
$[Co(NH_3)_5Cl]SO_4$	230,6	225,8	21,54	13,01			34,63	136,1
		theor.	21,38	12,86			34,85	137,8
$[Co(NH_3)_5Cl]CO_3 \cdot {}^1/_2H_2O$	283,4	32,4	23,92	14,19				
		theor.	23,70	14,27				

Das Nitrat wird durch Äthanol unter Salpetersäurezusatz in violettroten Nadeln gefällt. Die Analyse beweist, daß das neutrale Nitrat vorliegt. Zur Fällung des Perchlorats dienen Perchlorsäure und Äthanol. Die dunkelvioletten Kristalle des

Jodids werden durch Zugabe von 60%iger Jodwasserstofflösung erhalten. Bei der Darstellung des Bromids tritt durch Zugabe von Bromwasserstofflösung eine praktisch quantitative Fällung in Form violetter Nadeln auf. Durch Äthanol wird bei der Darstellung des Sulfats ein voluminöser, violetter Niederschlag gefällt, der nur langsam filtriert. Die Analyse beweist, daß weder ein saures noch ein wasserhaltiges Sulfat vorliegt. Durch Zusatz von Äthanol tritt bei der Herstellung des Carbonats ein feinkristalliner Niederschlag von rotvioletter Farbe auf. Bei diesem AM-Verfahren resultiert das Carbonat mit $^1/_2\,H_2O$[13].

Mit Hilfe der in Kap. A beschriebenen großen Apparatur mit einer Membranfläche von 48 cm² wird $[Co(NH_3)_5Cl]J_2$ in größerem Maßstab hergestellt (vgl. Tab. 10).

Tabelle 10. *Darstellung von* $[Co(NH_3)_5Cl]J_2$

Nr.	Coul.	Dauer min	$I_{max.}$ mA	Ausw. mg	mval.	$n_{Kat.}$	mval/Std	Membranfläche cm²
1	498	168	53	335,8	1,55	0,30	0,55	12
2	1365	92	290	838,5	3,86	0,28	2,52	48
3	1375	100	280	912,6	4,22	0,30	2,54	48
4	1445	102	290	883,5	4,08	0,27	2,39	48

Die Produkte fallen in der gleichen Reinheit wie bei den vorn beschriebenen Versuchen an.

Die Stromstärke und damit die Ausbeute sind im starken Maße von der Löslichkeit der Produkte abhängig (vgl. Kap. 5 und Tab. 8). Da das Bromid und die übrigen Salze dieser Reihe eine noch kleinere Löslichkeit besitzen[30], wird als Ausgangsprodukt das leichtest lösliche Salz der Reihe verwendet, das in genügender Reinheit und Menge zu erhalten ist. Die Analyse des auf dem üblichen Wege aus dem Bromid über das Chlorid und Sulfat hergestellten Perchlorats[14] zeigt, daß der Bromgehalt dieser Substanz stets zu niedrig ausfällt, da bei den Umwandlungen offenbar auch das komplex gebundene Br^- gegen Cl^- und gegebenenfalls SO_4^{2-} ausgetauscht wird. Es wurde daher auf Grund der bisherigen Ergebnisse das Perchlorat mittels AM in mehreren Einzelansätzen direkt aus dem Bromid dargestellt. Das Salz wird durch Fällung mit Äthanol unter Perchlorsäurezusatz in violetten Kristallen erhalten (vgl. Tab. 11).

Bei der Fällung des Sulfats entsteht durch Zusatz von Äthanol ein voluminöser, violetter Niederschlag, der sich als wasserfreies neutrales Salz erweist. Die Isolierung des Nitrats geschieht durch Zusatz von Äthanol und Salpetersäure. Dabei tritt ein kristalliner violetter Niederschlag auf. Die Analyse bestätigt, daß das neutrale Nitrat vorliegt. Bei der Darstellung des Chlorids wird durch Zusatz von Äthanol und Salzsäure ein dunkelvioletter Niederschlag erhalten. Die dunkelvioletten Kristalle des Jodids werden durch Zugabe von Äthanol und Jodwasserstofflösung gefällt.

Analog konnten $[Co(NH_3)_6]_2(SO_4)_3 \cdot 5\,H_2O$ aus dem entsprechenden Chlorid und $[Co(NH_3)_5H_2O]Cl_3$ aus dem entsprechenden Sulfat in der

gleichen Reinheit hergestellt werden. Bei Elektrodialysen mit $CoCl_2$ beträgt n_{Co} nur etwa 0,55; dadurch wird auch die Cl-Überführung verzögert.

Tabelle 11. *Analyse der* $[Co(NH_3)_5Br]X_2$*-Salze*

Substanz	Ges.-Umsatz	Ausw.	Co	Br	Cl bzw. J		SO_4 bzw. ClO_4	Val.
					ges.	ion.		
	mg	mg	%	%	%	%	%	
$[Co(NH_3)_5Br](ClO_4)_2 \cdot H_2O$	—	586,5	13,31	17,99			45,45	218,6
		theor.	13,37	18,12			45,11	220,5
$[Co(NH_3)_5Br]SO_4$	270,6	229,8	18,50	24,55			29,84	157,6
		theor.	18,42	24,97			30,01	160,0
$[Co(NH_3)_5Br](NO_3)_2$	152,0	133,4	17,08	22,73				171,8
		theor.	16,93	22,96				174,0
$[Co(NH_3)_5Br]Cl_2$	195,6	137,3	20,10	27,29	24,20	24,44		147,0
		theor.	19,98	27,09	24,04			147,5
$[Co(NH_3)_5Br]J_2$	—	147,8	12,44	16,60	52,40	53,32		235,5
		theor.	12,33	16,72	53,11			238,9

Co wurde nach Zerstörung der Komplexe mit Natronlauge und Abrauchen mit Salzsäure komplexometrisch[40] ermittelt. Der Gesamt-Cl^-- bzw. Br^--Gehalt wurde durch Fällung mit $AgNO_3$-Lösung in der Siedehitze erhalten. Zur Bestimmung des ionogenen Anteils wurde die Substanz über Permutit RS (H^+) gegeben und im Filtrat der anionische Anteil wie üblich analysiert. Durch Titration der entstandenen freien Säure war gleichzeitig das Äquivalenzgewicht (Val.) zu erhalten. Der Fehler dieser Bestimmung beträgt 0,3 bis maximal 2,2% und ist möglicherweise auf einen nicht ganz stöchiometrischen H^+-Austausch zurückzuführen. NH_3 wurde durch Destillation unter Zusatz von As_2O_3 bestimmt[18]. ClO_4^- wurde als $KClO_4$ gefällt[44], Cl^- wurde nach Mohr Br^- und J^- nach Volhard titriert.

7. Selektivitätsversuche

Zur Kennzeichnung der Selektivitätswirkung der AM werden in Ergänzung zu den in Kap. 1—6 erhaltenen Ergebnissen, die bereits auf eine Selektivitätsabhängigkeit der Überführung hinweisen, Versuche mit stark sauren und stark basischen AM beschrieben.

Bei Elektrodialysen wechselnder Ca^{2+}- und H^+-Mengen zeigt sich, daß bei gleicher Anfangskonzentration von Ca^{2+} und H^+ n_H nur etwa 2mal so groß ist wie n_{Ca}. Außerdem wird die Stromstärke offenbar durch die Ca^{2+}-Konzentration bestimmt. Es ergibt sich demnach ein deutlicher Unterschied zu den Versuchen mit schwach sauren KAM. Bei Ca^{2+}-Na^+-Elektrodialysen ist $n_{Ca} > n_{Na}$. Das Ion mit der größeren Ladung wird hier also besser überführt. Bei reinen $CaCl_2$-Elektrodialysen treten keine nennenswerten H^+- oder OH^--Mengen auf, obwohl $n_{Ca} < 1$ ist.

Bei Elektrodialysen mit NaCl und Na_2SO_4 mit stark basischen AAM zeigt sich, daß hier $n_{Cl} > n_{SO_4}$. Es ergibt sich ferner, daß n_{Cl} im Verlauf der Elektrodialyse ab- und n_{SO_4} analog zunimmt, da sich das

Cl^-/SO_4^{2-}-Verhältnis laufend verkleinert. Bei Versuchen mit NaCl und Na_2CO_3 zeigt sich, daß $n_{Cl} > n_{HCO_3}$ und eine Überführung von CO_3^{2-} nicht möglich ist, da dann auf Grund der Coulombzahl $n_{Cl} > 1$ wäre. Die Versuche stellen ein weiteres Beispiel dafür dar, daß OH^- nur schwach übergeführt wird. Ferner tritt wie bei den Cl^-/SO_4^{2-}-Versuchen ein Konzentration-Zeit-Effekt für n_{Cl} und n_{HCO_3} auf.

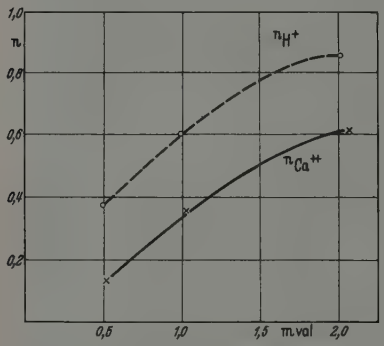


Abb. 9. n_{Ca} und n_H bei stark sauren KAM

Bei Elektrodialysen von $Na_2[PtCl_6]$ wird anfangs nur wenig $[PtCl_6]^{2-}$ übergeführt. Wird nach 90 min ein Elektrolyt zu Z. 3 zugefügt und weiter elektrolysiert, so werden weitere Mengen $[PtCl_6]^{2-}$ aus der AAM eluiert (vgl. Tab. 12).

Es zeigt sich, daß eine besonders selektive Bindung infolge sekundärer Einflüsse des Austauschers[4] auch die Überführung herabmindert und daß die wenn auch geringe Eluierungswirkung mit steigender Selektivität zunimmt. Durch schwach basische AAM wird $[PtCl_6]^{2-}$ praktisch nicht übergeführt[31]. Die quantitative Bestimmung erfolgt durch Reduktion mittels Hydrazinsulfat[9].

Tabelle 12. *Elektrodialysen von $Na_2[PtCl_6]$*

Nr.	Coul.	Eluierungsmittel	gegeben	gefunden	
			Pt		
			mg	mg	%
1	172	—	40,2	9,2	22,9
2	563	CH_3COONa	40,2	16,3	40,5
3	592	Na_2SO_4	40,2	26,8	66,7
4	573	Na_2HPO_4	40,2	31,5	78,3

Zusammenfassung

Bei der Trennung Mg^{2+}-Al^{3+} unter Verwendung von Ammoniumcitrat (p_H 7,5) gelangt Mg^{2+} ungehindert durch die KAM, während Al^{3+} als Citratkomplex nicht durch die schwach basische AAM aufgenommen wird und deshalb in der Ausgangszelle verbleibt. Zur Trennung Molybdat-Wolframat werden AAM von möglichst geringer Basizität und Boratpuffer zur Einhaltung eines bestimmten p_H-Bereichs verwendet.

Bei der präparativen Reinigung von Molybdat und Wolframat mit stark basischen AAM ist zur Erzielung des Trenneffekts nur die Zugabe einer bestimmten Salzsäuremenge nötig. Eine Reinigung auf Grund der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit in der AM wird an dem System Cu^{2+}-H^+ demonstriert.

Bei der Herstellung definierter Verbindungen mittels AM wird als Beispiel die Na_2CO_3-Darstellung durch Konvertierung aus NaCl und $(NH_4)_2CO_3$ durchgeführt. Bei der Konvertierung schwer löslicher Verbindungen ergibt sich, daß die Überführung etwa parallel der Sättigungskonzentration dieser Substanzen verläuft. Die Grenze dieser Methode liegt bei einer Konzentration der gesättigten Lösung von 10^{-5} n. Bei der Darstellung verschiedener kationischer Co-Ammin-Komplexe durch Anionersatz werden die Produkte ohne Umkristallisation in Analysenreinheit erhalten. Im Gegensatz zum Säulen- oder Batschverfahren können mit der AM-Methode auch Komplexe konvertiert werden, deren freie Base unbeständig ist.

Die vorliegende Arbeit wurde im Anorganisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin durchgeführt. Wir danken dem Direktor des Instituts, Herrn Professor Dr. G. Jander, für Unterstützung und Diskussion und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung von Mitteln.

Literatur

[1] Baumann, W. C., u. J. Eichhorn: J. Amer. chem. Soc. **69**, 2830 (1947). — [2] Bergsman, F., u. A. J. Staverman: Discuss. Faraday Soc. **21**, 61 (1956). — [3] Bjerrum, N., u. E. Manegold: Kolloid-Z. **43**, 5 (1927). — [4] Blasius, E., u. U. Wachtel: diese Z. **142**, 341 (1954). — [5] Bogatzki, G.: diese Z. **114**, 170 (1938). — B. Lange: Kolorimetrische Analyse, 4. Aufl. S. 183 (1952). — Sandell, E. B.: Colorimetric Determination of Traces of Metals, S. 430 (1944). — [6] Cornaz, J. P., u. H. Deuel: Helv. chim. Acta **39**, 1220, 1227 (1956). — [7] D'Ans, J., E. Blasius, H. Guzatis u. U. Wachtel: Chemiker-Ztg. **76**, 811, 841 (1952); vgl. diese Z. **140**, 52 (1953). — [8] Fisher, S., u. R. Kunin: Analyt. Chemistry **27**, 1191 (1955); vgl. diese Z. **150**, 274 (1956). — [9] Fresenius, W., u. G. Jander: Handb. d. analyt. Chem., 3. Teil, Band VIIIb, III, S. 26 (1953). — [10] Frilette, V. J.: J. Physic. Chem. **60**, 435 (1956). — Kressmann, T. R. E., u. F. L. Lye: Angew. Chem. **68**, 443 (1956). — [11] Gmelin, L.: Handbuch der anorgan. Chem., 8. Aufl. (1930), **58** *B*, S. 156ff., 172ff. — [12] wie [11], S. 150. — [13] wie [11], S. 157. — [14] wie [11], S. 173. — [15] Gregor, H. P., J. Belle u. R. A. Marcus: J. Amer. chem. Soc. **77**, 2713 (1955). — [16] Gregor, H. P., u. D. M. Wetstone: Discuss. Faraday Soc. **21**, 162 (1956). — [17] Helfferich, F.: Angew. Chem. **67**, 13 (1955). — [18] Horan, H. A., u. H. J. Eppig: J. Amer. chem. Soc. **71**, 581 (1949); vgl. diese Z. **130**, 274 (1949/50). — [19] Hurd, L. C., u. H. O. Allen: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **7**, 396 (1935); vgl. diese Z. **111**, 29 (1937/38). — Kapron, M., u. P. L. Hehman: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **17**, 573 (1945). — Lange, B.: Kolorimetrische Analyse, 4. Aufl., S. 194 (1952). — Wrangell, L. J., E. C. Bernam, D. F. Kuemmel u. O. Perkins: Analyt. Chemistry **27**, 1966 (1955); vgl. diese Z. **155**, 233 (1957). — [20] Jahr, K. F., u. H. Wirtmann: Z. anorg. allg. Chem. **208**, 145 (1932). — [21] Jander, G.: Z. physik. Chem., Abt. A **187**, 149 (1940). — [22] Jander, G., u. F. Exner: Z. physik. Chem., Abt. A **190**, 195 (1942). — [23] Jander, G., u. K. F. Jahr: Kolloid-chem. Beih. **41**, 1 (1934). —

[24] Jander, G., K. F. Jahr u. W. Heukeshoven: Z. anorg. allg. Chem. **194**, 383 (1930). — [25] Jones, M. K.: J. Amer. chem. Soc. **76**, 4233 (1954). — Nelidow, I., u. M. M. Diamond: J. physic. Chem. **59**, 710 (1955). — [26] Kienbaum, F.: Dipl.-Arbeit TU Berlin 1957, unveröffentl. — [27] Kunin, R., F. X. McGarvey u. A. Farren: Analyt. Chemistry **28**, 729 (1956). — Ind. Engng. Chem. **48**, 540 (1956). — [28] Kunin, R., u. R. J. Myers: J. Amer. chem. Soc. **69**, 2874 (1947). — [29] Kurmies, B.: Über die Bildung von Ca-Phosphaten in wäßriger Lösung, S. 40 (1953). — [30] Landolt-Börnstein, 5. Aufl., Erg. Band I, 259 (1927); IIIa, 494 (1935). — [31] Lange, G.: Dipl.-Arbeit TU Berlin 1954, unveröffentl. — [32] Lye, F. L.: Discuss. Faraday Soc. **21**, 121 (1956). — [33] Merck, E.: Die Bestimmung der Wasserstoffionen mit Indicatoren, 5. Aufl., S. 41. — [34] Nelson, F., u. K. A. Kraus: J. Amer. chem. Soc. **77**, 801 (1955); vgl. diese Z. **148**, 205 (1955/56). — [35] Römpp, H.: Chemie-Lexikon, 3. Aufl., S. 250 (1952). — [36] Samuelson, O., u. B. Sjöberg: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 121 (1956); vgl. diese Z. **154**, 275 (1957). — [37] Schwarzenbach, G.: Die komplexometrische Titration, S. 68 (1955). — [38] wie [37], S. 52. — [39] wie [37], S. 57. — [40] wie [37], S. 65. — [41] wie [37], S. 76. — [42] United Water Softeners Ltd. — [43] Vogel, A. I.: A Textbook for quantitative Analysis, 2. Aufl., S. 478 (1951). — [44] wie [43], S. 497. — [45] Wheaton, R. M.: Chem. Engng. Progr. Symp. 50, **14**, 43 (1954). — [46] Winger, A. G.: J. physic. Chem. **60**, 556 (1956).

Dr.-Ing. E. Blasius, Berlin-Charlottenburg 2, Hardenbergstr. 34 (Chemiegebäude)

Department of Chemistry, Banaras Hindu University, Banaras (India)

Gravimetric Determination of Silver as Silver Chromate

By

G. P. Pendse*, H. D. Bhargava* and B. R. Sant

(Eingegangen am 9. September 1957)

Gooch and Bosworth[1] first studied the quantitative precipitation of silver as silver chromate and estimated either the unreacted or the combined chromate iodometrically with standard thiosulphate. An attempt has now been made to investigate the possibility of determining silver gravimetrically as silver chromate.

Experimental

E. Mercks guaranteed samples of silver nitrate and potassium chromate were used to prepare their aqueous solutions of desired strength. To a known excess of the potassium chromate solution taken in a 400 ml beaker and diluted with about 100 ml of water, a measured volume of silver nitrate solution was added slowly with constant stirring. The brownish-red precipitate was filtered through a previously weighed sintered glass crucible and washed 3—4 times with cold water. The precipitate was dissolved in ammonium hydroxide and the solution boiled gradually till free of ammonia, to reprecipitate the greenish-black silver chromate. It was

* Department of Chemistry, Victoria College, Gwalior (India).

filtered through the same crucible, washed first with cold water and then successively with rectified spirit, absolute alcohol and ether, and finally dried at 50—60° C to constant weight. These data are entered in Table 1.

Table 1

Weight of silver chromate (g)		Difference
Expected on the basis of Ag_2CrO_4	Found	g
0.0498	0.0496	0.0002
0.0830	0.0826	0.0004
0.1659	0.1650	0.0009
0.3318	0.3310	0.0008
0.4977	0.4958	0.0019
0.6637	0.6640	0.0003

It will be seen that the weight of silver chromate obtained is in fair agreement with that expected theoretically on the basis of the formula Ag_2CrO_4. Identical results were obtained when the precipitate washed only with water was dried at 110—120° C. A series of experiments showed that the composition Ag_2CrO_4 remains unaltered by varying the quantity of the excess precipitant.

According to KÖHLER[2], pure silver chromate is always greenish-black in colour and the brownish-red substance supposed to be a separate modification is really a mixture of silver chromate and a solid solution of that salt with nitrates. In conformity with these observations, preliminary experiments revealed that the direct weight of the brownish-red silver chromate was generally higher than that expected on the basis of Ag_2CrO_4.

Further work on the iodometric determination of silver chromate by arsenious oxide, similar to that on the chromates of barium and lead[3], is now in progress.

Summary

Gravimetric estimation of silver, based upon its quantitative precipitation as normal silver chromate, Ag_2CrO_4, is described.

References

[1] GOOCH, F. A., and R. S. BOSWORTH: Amer. J. Sci. **27**, 241 (1909); Z. anorg. allg. Chem. **62**, 68, 71 (1909). — [2] KÖHLER, F.: Z. anorg. allg. Chem. **96**, 207 (1916).— [3] SANT, B. R.: Z. analyt. Chem. **148**, 176 (1955/56).

Dr. B. R. SANT, Coates Chemical Laboratories, Louisiana State University, Baton Rouge 3, La., USA

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India)

A New Volumetric Method for the Determination of Uranium(VI)

Photochemical Reduction with Ether

By

V. Panduranga Rao and G. Gopala Rao

(Eingegangen am 7. Oktober 1957)

Gopala Rao, Panduranga Rao and Venkatamma[4] have utilised the photochemical reduction of uranium(VI) salts by ethanol in sunlight or artificial light for the rapid volumetric determination of uranium. The resulting uranium(IV) is titrated with a standard solution of sodium vanadate using diphenyl benzidine (D.B.) or N-phenyl anthranilic acid (N.P.A.) as inside indicator[5]. Gopala Rao, Panduranga Rao and Rama Rao[3] have utilised the photochemical reaction between uranium(VI) salt and lactic acid for the same purpose. During a survey of several photochemical reactions, we have found that the photochemical reaction between uranium(VI) anddiethyl ether can also be used with great facility as a basis for the volumetric determination of uranium. Benrath[2] had already noticed that uranium(IV) oxychloride is obtained in ether solution by the photochemical reduction of UO_2Cl_2 in ether. We have now investigated the conditions under which uranium(VI) is reduced in aqueous solution quantitatively to uranium(IV) by an aqueous solution of ether in sunlight or artificial light.

We have observed that, when a uranium(VI) salt solution is mixed with a saturated solution of diethyl ether in water and exposed to light, a violet precipitate is obtained. This is presumably uranous uranic oxide, U_3O_8, which is reported by Zehenter[6] as also by Aloy et al.[1a, b] to be formed by the photochemical reduction of uranyl salt by glucose and other carbohydrates. However, it has been observed by us that the violet precipitate does not form, if the reaction mixture is acidified with sulphuric acid. In an acid medium the reduction of the uranium(VI) salt proceeds smoothly to the uranium(IV) state, and the solution acquires a light green color. The reduction does not proceed to uranium(III) or uranium(V) stage in an acid medium under all conditions of exposure to light.

Experimental

Materials used: The *uranyl acetate* employed in this investigation is a sample supplied by Mallinckrodt Chemical Works, New York, and is of analytical reagent quality meeting the American Chemical Society specifications. Solutions prepared

from this salt were standardised (1) by a gravimetric method precipitating as the uranyl oxinate, igniting and weighing it as U_3O_8 and (2) by a volumetric method already described by GOPALA RAO, PANDURANGA RAO and VENKATAMMA, where alcohol has been used for reducing uranium (VI) quantitatively to uranium (IV) in sunlight.

A saturated aqueous solution of *diethyl ether* (solubility: 7.5 parts in 100 parts [w/w] of water at 20° C) is prepared and stocked in an amber colored bottle. This solution is used as the photochemical reductant.

Experiments in Sunlight

The uranyl salt-ether mixtures are exposed in pyrex conical flasks of 100 ml capacity to bright sunlight. The amount of uranium (IV) salt formed in a given time is determined by withdrawing the flask from sunlight and estimating the uranium (IV) salt with a standard solution of sodium vanadate. The results are given in Table 1.

Table 1

2.0 ml of 0.0225 M uranyl acetate solution — 10.0 ml of saturated ether solution — 5.0 ml of 5 N sulphuric acid — water to make up to 25 ml — exposed to sunlight

Time of exposure in minutes	Amount of uranium(IV)salt formed in millimoles	Time of exposure in minutes	Amount of uranium(IV)salt formed in millimoles
15	0.0360	90	0.0446
30	0.0442	120	0.0448
45	0.0446	theoretical	0.0450
60	0.0450		

Experiments with the Light from a "Repro Lamp"

In these experiments a Philips high pressure mercury vapour lamp has been used. The mixtures were exposed in Thunberg tubes. The glass stop-cocks were so adjusted as to allow a small leakage to facilitate the escape of ether vapour. The results are given in Table 2.

Table 2

2.0 ml of 0.0225 M uranyl acetate solution — 10.0 ml of saturated aqueous ether solution — 5.0 ml of 5 N sulphuric acid — water to make up the total volume to 25 ml — exposed to the light from a repro lamp

Time of exposure in minutes	Amount of uranium(IV) formed in millimoles	Time of exposure in minutes	Amount of uranium(IV) formed in millimoles
15	0.0330	60	0.0450
30	0.0440	90	0.0446
45	0.0448	120	0.0448

Influence of Varying Sulphuric Acid Concentration

The results recorded in Table 3 (p. 192) show that a minimum concentration of acid (about 0.5 N) is required for effective photochemical reduction. Increasing acid concentration increases the speed of reduction up to about 0.5 N, above which there is no further increase in the speed. In the

experiments conducted in the absence of sulphuric acid, a violet precipitate is formed which is similar to that obtained by Aloy in experiments with reducing sugars.

Table 3

2.0 ml of 0.0225 M uranyl acetate solution + 10.0 ml of saturated ether solution + requisite volume of 5.0 N sulphuric acid + water to make up the volume to 25 ml — exposed for 15 minutes in Thunberg tubes to the light from repro lamp and titrated with standard sodium vanadate solution

Overall sulphuric acid concentration	Amount of uranium(IV) salt formed in millimoles	Overall sulphiric acid concentration	Amount of uranium(IV) salt formed in millimoles
Nil	0.0088	1.0 N	0.0333
0.1 N	0.0225	2.0 N	0.0330
0.2 N	0.0280	4.0 N	0.0336
0.5 N	0.0330	theoretical	0.0450

Experiments in Monochromatic Light

The results recorded in Table 4 indicate that wavelengths above 4300 Å are ineffective for the photochemical reduction of uranyl acetate by ether. The different spectral regions have been isolated with the help of filters supplied by Photovolt Corporation, New York, using sunlight as the source.

Table 4

2.0 ml of 0.0225 M uranyl acetate solution + 10.0 ml of ether solution + 5.0 ml of 5 N sulphuric acid + water to make up to 25 ml — exposed for 20 minutes

Average wave length Å	Amount of uranium(IV) formed in millimoles	Average wave length Å	Amount of Uranium(IV) formed in millimoles
6500	0.0000	4300	0.0250
5300	0.0000	3800	0.0250
4900	0.0000	theoretical	0.0450

Influence of some Foreign Ions on the Photoreduction

Fluoride precipitates the uranous salt formed in the course of the photoreduction, if sufficient acidity is not maintained; otherwise, it does not in any way interfere with the photochemical reduction and the subsequent oxidimetric titration. Chloride and bromide ions (even at very small concentrations) remarkably inhibit the reaction. Consequently, the photoreduction cannot take place in hydrochloric acid solutions. Oxalic acid retards the reduction only to a small extent. Perchlorate, arsenate and phosphate also do not interfere with the photochemical reduction.

Photochemical Volumetric Estimation of Uranium(VI)

Many estimations of uranium (VI) salt have been carried out adopting this new method and typical results obtained are given in Table 5. The procedure consists in

mixing a known volume of the uranium (VI) solution with 10 ml of saturated ether solution in water and sulphuric acid sufficient to keep the overall acidity at about 1.0 N. The mixture is diluted to 25 ml and then exposed to the light from a repro lamp for about 1 hour. After exposure, the solution is titrated with a standard sodium vanadate solution using diphenylbenzidine or N-phenyl anthranilic acid as the internal indicator. Some experiments have been carried out using 5.0 ml of syrupy phosphoric acid in place of sulphuric acid. It will be noted that the method gives very satisfactory results.

Table 5

Amount of uranium(VI) taken in millimoles	Amount of uranium(VI) found in millimoles	Amount of uranium(VI) taken in millimoles	Amount of uranium(VI) found in millimoles
0.0280	0.0280	0.0780	0.0776
0.0450	0.0448	0.1250	0.1246
0.0625	0.0622	0.1560	0.1554

Summary

A new volumetric method for the estimation of uranium(VI) salt based on its photoreduction in the presence of diethyl ether has been developed. The recommended procedure consists of exposing uranium(VI) solution in about 1 N sulphuric acid solution with an excess of saturated aqueous ether solution in a glass vessel to the light from a Phillips repro lamp or sun light for 1 hour. The uranium(IV) salt formed is estimated by titration with a standard solution of sodium vanadate.

The reduction does not proceed to uranium(III) stage under any conditions of exposure. Fluoride, phosphate, arsenate and perchlorate are not found to interfere either with the photochemical reduction or with the subsequent oxidimetric titration. But chloride and bromide ions markedly inhibit the photochemical reaction.

References

[1a] Aloy, J.: Bull. Soc. chim. France **1900**, 369. — [1b] Aloy, J., and E. Rodier: Bull. Soc. chim. France **1920**,104. — [2] Benrath, A.: Z. wiss. Photogr., **16**, 258 (1917). — [3] Rao, G. Gopala, V. Panduranga Rao, and M. V. Rama Rao: Anal. chim. Acta, (Amsterdam) **15**, 97 (1956); cf. Z. anal. Chem. **155**, 375 (1957). — [4] Rao, G. Gopala, V. Panduranga Rao, and N. C. Venkatamma: Z. anal. Chem. **150**, 178 (1956). — [5] Rao, V. Panduranga, B. V. S. R. Murty and G. Gopala Rao: Z. anal. Chem., **147**, 161 (1955). — [6] Zehenter, J.: Monit. Sci. **21**, 237 (1900).

Prof. G. Gopala Rao, Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India)

Chemical Laboratories, Government College, Kota (Rajasthan), India

Potentiometric Determination of Lead

By
RAM SAHAI SAXENA

With 4 Figures in the text

(Eingegangen am 18. Oktober 1957)

The reaction between lead nitrate and potassium ferrocyanide has been studied potentiometrically using ferricyanide-ferrocyanide electrode. A pronounced maxima in dE/dC is obtained at the end point corresponding to the formation and precipitation of $Pb_2Fe(CN)_6$. The potentiometric curves have a regular form, the results are very accurate and reproducible and the electrometric method can be suitably used for the quantitative determination of lead in moderately concentrated solutions. The effect of alcohol and electrolytes on the end point as well as on the nature of curves has been studied.

There are very few references in literature to the detailed study of this reaction by electrometric methods. MÜLLER and GÄBLER[2] and MÜLLER and PRÉE[3] made a brief investigation of the possibility of determining lead and zinc, and cadmium and lead respectively in the solutions of their salts. Attempts have therefore been made to investigate a simple and rapid potentiometric method for the estimation of lead solutions and the results have been incorporated in this paper.

Experimental

Mercks guaranteed extra pure reagents $Pb(NO_3)_2$ and $K_4Fe(CN)_6$ were used. The strengths of solutions were checked by standard methods of analysis. Using different concentrations of reactants, titrations were performed both by the direct and the reverse methods, i. e., when $K_4Fe(CN)_6$ solution from the micro-burette was added to $Pb(NO_3)_2$ solution in the electrode cell and viceversa. Potassium ferrocyanide solution containing 1% ferricyanide solution was used to make ferri-ferrocyanide electrode[1]. A bright platinum foil was dipped in the solution of the titre and used as an indicator-electrode in conjunction with a saturated calomel electrode through a saturated NH_4NO_3 bridge. E.M.F. was read on a Cambridge p_H meter. Curves were plotted between the E(obs) and the volume of the titrant and the end point was determined by the sharp jump in potential indicated by the maxima in dE/dC. Titrations were also carried out in presence of varying concentrations of alcohol and electrolytes such as KNO_3 and NH_4NO_3. 20 ml of the solution were taken in the titration vessel each time.

Discussion

It may be observed from Fig. 1—4 and the summary of results in Table 1 that the reaction between $Pb(NO_3)_2$ and $K_4Fe(CN)_6$ can be

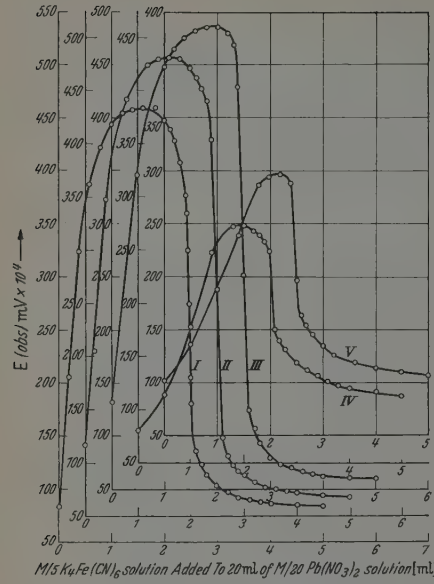
successfully followed potentiometrically applying ferri-ferrocyanide electrode with either of the reactants alternately used as the titre. The end point obtained from the maximum dE/dC and from the sharp inflection in curves, occurs at a stage where the molecular ratio of reactants $K_4Fe(CN)_6 : Pb(NO_3)_2$ is as 1:2, corresponding to the formation of $Pb_2Fe(CN)_6$.

Table 1. *Summary of Results of Potentiometric Titrations*

Molarity of solutions		Points of equivalence ml of $K_4Fe(CN)_6$ or $Pb(NO_3)_2$ solns., required for the formation of $Pb_2Fe(CN)_6$					
			Observed from dE/dC in presence of				
		Calculated	Alcohol			NH_4NO_3 1 g	KNO_3 1 g
$K_4Fe(CN)_6$	$Pb(NO_3)_2$		0%	10%	20%		
Direct titrations (Figs. 1 and 2, p. 196)							
M/5	M/20	2.50	2.47	2.49	2.50	2.55	2.46
M/10	M/25	4.0	3.97	3.99	4.0	4.08	3.98
M/40	M/125	3.2	3.17	3.18	3.20	No fall	No fall
M/100	M/500	3.0	2.90	2.92	2.94	No fall	No fall
Reverse titrations (Figs. 3 and 4, p. 196)							
M/50	M/5	4.0	4.04	4.03	4.02	4.04	4.02
M/250	M/20	3.2	3.17	3.17	3.18	3.15	3.15
M/750	M/50	2.67	2.62	2.64	2.65	No fall	No fall
M/1000	M/125	5.0	4.76	4.80	4.82	No fall	No fall

The potential of ferricyanide-ferrocyanide electrode is given by: $E - E_0 + 0.059 \log [Fe(CN)_6]^{-3}/[Fe(CN)_6]^{-4}$ at 25° C. When lead nitrate solution is titrated with potassium ferrocyanide containing a little ferricyanide, the ferrocyanide is removed until all the metal is precipitated As long as the ferrocyanide ions are removed, the potential remains in the oxidising region, but as the first excess of the ferrocyanide is added, a sharp change in the E.M.F. of the titration cell is observed at the equivalence point. In the reverse titrations (when $Pb(NO_3)_2$ from the microburette is added to $K_4Fe(CN)_6$ in the cell) the ferrocyanide ions are being removed from solution by precipitation and the E.M.F. of the cell remains practically constant. But when the last traces of the ferrocyanide ions have been removed (i. e., in the vicinity of the end point), a sharp upward jump in potential is observed indicating the end point. The ferri-ferrocyanide electrode ceases to work after the equivalence point has been crossed and, hence, the E. M.F. assumes a constant value.

In the direct titration curves (Fig. 1 and 2), the E.M.F. at first rises in the beginning of the reaction, then becomes practically constant and afterwards begins to decrease with a sharp fall in potential observed at



← Fig. 1

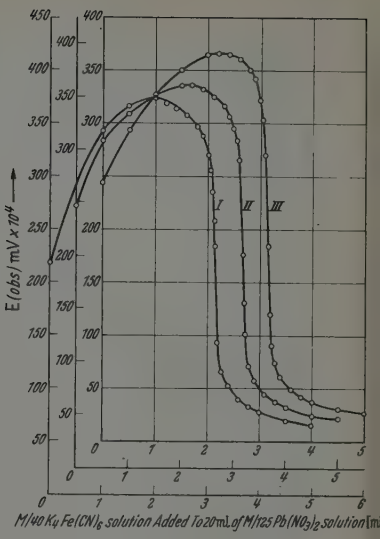
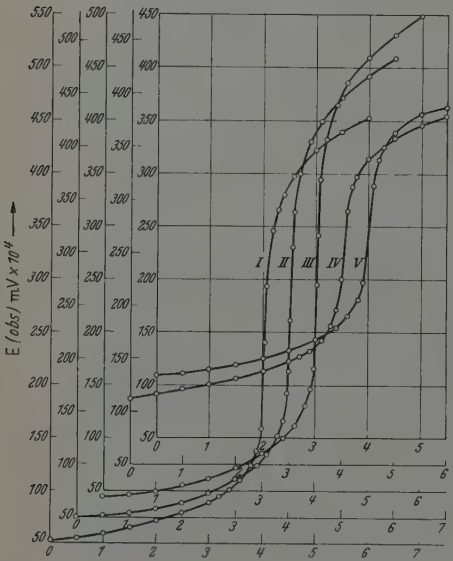


Fig. 2



← Fig. 3

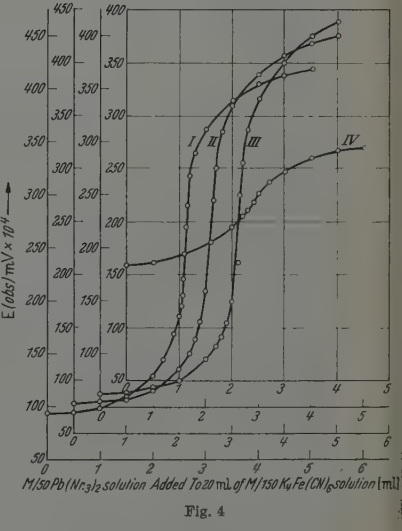


Fig. 4

the end point. In the reverse titrations (Fig. 3 and 4), however, E.M.F. gradually increases from the start of the reaction; a marked upward jump is obtained at the equivalence point after which the potential becomes nearly constant. The potentiometric titrations curves are regular in shape.

It may be noted that in presence of 10% and 20% alcohol, no particular change is observed in the nature of curves or on the magnitude of the break in potential except that the observed end point slightly approaches the calculated value in alcoholic medium (vide Table 1). This may be due to the decrease of the solubility of lead ferrocyanide and also suppression of the adsorption of the reacting ions by the precipitate in the presence of increasing amounts of alcohol. It may be seen from curves that in presence of electrolytes such as KNO_3 and NH_4NO_3, the magnitude of the break in potential greatly decreases, so much so that in very dilute solutions of reactants, no break in potential is observed at all. This may be ascribed to the formation of complexes of lead nitrate with KNO_3 and NH_4NO_3.

Potentiometric titrations yield very accurate and reproducible results and the method can be successfully applied for the quantitative determination of lead in moderately concentrated solutions. The titration is simple and takes a short time. The error is about 1% in aqueous solutions and further decreases in presence of alcohol.

References

[1] Kolthoff, I. M., and N. H. Furman: Potentiometric Titrations. 2. Edit., New York: J. Wiley & Sons 1931, p. 323. — [2] Müller, E., and K. Gäbler: Z. anal. Chem. **62**, 29 (1923). — [3] Müller, E., and W. Prée: Z. anal. Chem. **72**, 195 (1927).

Prof. Dr. Ram Sahai Saxena, Department of Chemistry, Government College, Kota, Rajasthan, (India)

Fig. 1. Direct Titrations. Curve I: aqueous; Curve II: 10% alcohol; Curve III: 20% alcohol; Curve IV: 1 g NH_4NO_3; Curve V: 1 g KNO_3

Fig. 2. Direct Titrations. Curve I: aqueous; Curve II: 10% alcohol; Curve III: 20% alcohol

Fig. 3. Reverse Titrations. Curve I: aqueous; Curve II: 10% alcohol; Curve III: 20% alcohol; Curve IV: 1 g NH_4NO_3; Curve V: 1 g KNO_3

Fig. 4. Reverse Titrations. Curve I: aqueous; Curve II: 10% alcohol; Curve III: 20% alcohol; Curve IV: 1 g NH_4NO_3

Institut für Allgemeine Chemie der Universität für landwirtschaftliche Wissenschaften, Budapest

Über die titrimetrische Bestimmung der Bromid-Ionen

Von

LADISLAUS SZEKERES

(Eingegangen am 1. November 1957)

Die zur Bestimmung der Bromidionen dienenden titrimetrischen Verfahren können in fünf Gruppen eingeteilt werden.

WINKLER[12] titrierte die mit Schwefelsäure angesäuerte Lösung von Alkalibromiden unter Kochen mit Kaliumpermanganat. Bei dieser Methode wirken Chloridionen in höherer Konzentration störend.

Mehrere andere Forscher[2,4,5,7,8,9,11] oxydieren die Bromidionen mit Hypochlorit zu Bromat, und bestimmen nach Entfernen des im Überschuß angewandten Oxydationsmittels die Menge des entstandenen Bromates jodometrisch.

SCHULEK[6] setzt das elementare Brom aus Bromiden durch Chlor frei und behandelt das Gemisch mit Kaliumcyanid, wobei ClCN und BrCN entstehen. Nach einer gewissen Wartezeit macht Chlorcyan kein elementares Jod aus Jodiden frei, während Bromcyan Jodid zu Jod oxydiert und auf diese Art jodometrisch bestimmt werden kann.

Nach der bekannten Acetonmethode von BERG[1] können die Jodidionen von Bromidionen bzw. die Bromidionen von Chloridionen getrennt und die Mengen der Bromid- bzw. Chloridionen argentometrisch gemessen werden.

DENOËL[3] oxydiert Bromidionen durch Bromat zu elementarem Brom, das er nach Extrahieren mit Tetrachlorkohlenstoff jodometrisch bestimmt.

Das nachstehend beschriebene Verfahren (vgl. auch [10]) beruht darauf, daß man die zu untersuchende Br^--ionhaltige Lösung mit einem gemessenen Volumen von $KBrO_3$-Lösung bekannter Konzentration vermischt und das Gemisch mit Schwefelsäure ansäuert. Das nach der Gleichung:

$$BrO_3^- + 5\,Br^- + 6\,H^+ = 3\,Br_2 + 3\,H_2O \qquad (1)$$

entstandene Brom wird als Hypobromit mit H_2O_2 zu Bromid reduziert:

$$OBr^- + H_2O_2 = Br^- + H_2O + O_2, \qquad (2)$$

sodann wird der Bromatüberschuß jodometrisch bestimmt. An Stelle von H_2O_2 ist auch HCOONa oder $(COONa)_2$ anwendbar.

Da sich die Reaktion (1) nicht momentan abspielt, wurde untersucht, welche Konzentrationen an Bromat bzw. Schwefelsäure bei der analytischen Anwendung der Reaktion (1) nötig sind.

Die Versuche zeigen, daß in 1 n schwefelsauren Lösungen bei Raumtemperatur binnen wenigen Minuten selbst sehr kleine Mengen von Br^--Ionen mit einer 0,01 n, bzw. 0,1 n Bromatlösung leicht oxydiert werden können.

Wenn die zu untersuchende Lösung auch Jodidionen enthält, liefert das Verfahren natürlich keine genauen Resultate, da die Bromationen in saurer Lösung infolge der bekannten Gleichung

$$BrO_3^- + J^- = JO_3^- + Br^-$$

nur langsam reagieren. Vor Beginn der Untersuchung sind daher die Jodidionen zu entfernen. Bei der Untersuchung des Einflusses von Chloridionen haben wir festgestellt, daß keine Reaktion der Chloridionen mit Bromationen stattfindet, wenn man die Titration in 1 m schwefelsaurer Lösung durchführt und die Konzentration an Halogenidionen 0,05 n nicht überschreitet.

Beschreibung der Versuche

Man versetzte 5 ml einer 0,02 n bis 0,1 n KBr-Lösung mit 5—30 ml einer 0,1 n NaCl-Lösung, gab 10 ml 0,05 n bzw. 15 ml 0,1 n $KBrO_3$-Lösung (je nach der Konzentration der anwesenden Bromidionen) und ein dem Gesamtvolumen der Lösung gleiches Volumen an 2 n Schwefelsäure zu und ließ das Gemisch 15 min stehen. In dieser Zeit spielte sich Reaktion (1) vollkommen ab. Nach der Wartezeit machte man das Gemisch durch Zugabe von 5 n Natronlauge in 20%igem Überschuß (über die theoretisch zur Neutralisierung der Schwefelsäure benötigte Menge) alkalisch, um das nach Reaktion (1) entstandene elementare Brom in Hypobromit überzuführen. Sodann erwärmte man 15 min mit 15—30 ml 3%iger Wasserstoffperoxydlösung, um das Hypobromit zu reduzieren und anschließend überschüssiges Wasserstoffperoxyd zu zersetzen. Man kühlte ab, gab Kaliumjodidlösung und konzentrierte Salzsäure zu und ermittelte die Menge des an der Reaktion (1) nicht beteiligten Bromates durch Titration mit einer 0,05 n—0,1 n Natriumthiosulfatlösung. Bei unseren Untersuchungen wurde in jedem Fall auch eine Blindprobe durchgeführt. Die Analysenergebnisse sind in der Tab. 1 (S. 200) (Spalte A) zusammengestellt.

Wir fanden im Laufe unserer Untersuchungen, daß die Anwendung von Natriumhydroxyd zum Alkalisieren nicht unentbehrlich ist. Es wurden nämlich ebenso genaue Resultate erhalten, wenn man nach dem Neutralisieren der Schwefelsäure einige Gramm $NaHCO_3$ dem Gemisch zugab und im übrigen wie oben verfuhr. Die Ergebnisse sind in der Tab. 1 enthalten. Auch hier wurden stets die notwendigen Leerversuche vorgenommen.

Auf Grund der durchgeführten Versuche wird für die Bestimmung der Bromidionen (in Anwesenheit von Chloridionen) folgende Arbeitsweise empfohlen:

Aus dem zu untersuchenden Bromid-Chloridgemisch stellt man eine 0,02n bis 0,1n Lösung her, vermischt 10 ml dieser Lösung mit 15 ml 0,1n $KBrO_3$-Lösung und 25 ml 2n Schwefelsäure, neutralisiert nach 15 min mit 10 ml 5n Natronlauge und gibt 3 g $NaHCO_3$ zu. Die schwach alkalische Lösung versetzt man mit 15 ml 3%iger Wasserstoffperoxydlösung, erwärmt auf dem Wasserbad bis zum Aufhören der Gasentwicklung (etwa 15 min), kühlt sodann ab, verdünnt mit wenig Wasser, gibt 20 ml einer 2%igen Kaliumjodidlösung und 15 ml konzentrierte Salzsäure zu und titriert mit 0,05n—0,1n Natriumthiosulfatlösung.

1 ml der 0,1n KBr-Lösung reduziert 1,2 ml einer 0,1n $KBrO_3$-Lösung.

Tabelle 1

Nr.	Angewandt					ml 0,1n(0,05n) $Na_2S_2O_3$-Lösung** verbraucht				berechnet
	0,1n KBr-Lösung	0,1n NaCl-Lösung	0,1n $KBrO_3$-Lösung	Gesamtvolumen mit zugesetztem Wasser	2n Schwefelsäure	A*		B*		
	ml	ml	ml	ml	ml					
1	5	—	15	20	20	8,90	8,90	8,95	8,95	9,00
2	5	5	15	25	25	8,98	9,00		—	9,00
3	5	10	15	30	30	8,95	8,95	9,00	9,00	9,00
4	5	20	15	40	40	8,95	8,95	8,95	8,97	9,00
5	5	30	15	50	50	8,90	8,95	8,95	8,95	9,00
6	1	—	5	15	15	7,50	7,55	7,60	7,65	7,60
7	1	5	5	20	20	7,55	7,55	7,58	7,60	7,60
8	1	10	5	25	45		—	7,55	7,55	7,60
9	1	20	5	35	35		—	7,55	7,57	7,60
10	1	30	5	45	45	7,45	7,55	7,57	7,60	7,60

* A = Arbeitsweise mit NaOH-Überschuß; B = Arbeitsweise mit $NaHCO_3$.

** Bei den Versuchen 1—5 wurde mit 0,1n $Na_2S_2O_3$-Lösung titriert, bei den Versuchen 6—10 mit 0,05n $Na_2S_2O_3$-Lösung.

Zusammenfassung

Aus einem jodidfreien Bromid-Chloridgemisch wird eine ungefähr 0,1n Lösung hergestellt. Die Bromidionen werden in 1n schwefelsaurer Lösung durch eine Bromatlösung bekannten Volumens und bekannter Konzentration zu elementarem Brom oxydiert, das man sodann mit Natronlauge bzw. Natriumhydrogencarbonat in Hypobromit überführt. Dieses wird mit Wasserstoffperoxyd reduziert. Der Überschuß an Wasserstoffperoxyd wird durch Erwärmen zersetzt und das überschüssige Bromat jodometrisch bestimmt. 5 Mole HBr reduzieren 1 Mol $HBrO_3$. Das Verfahren liefert noch in Anwesenheit einer dreißigfachen Menge an Chlorid Resultate von ausreichender Genauigkeit.

Frl. E. Kardos danke ich für die Durchführung der Versuche.

Literatur

[1] Berg, R.: diese Z. **69**, 342, 369 (1926). — [2] Bitskei, J.: diese Z. **150**, 267 (1956); **151**, 423 (1956). — [3] Denoël, A.: J. Pharmac. Belgique **22**, 179 (1940). — [4] Hansen, A.: diese Z. **143**, 17 (1954). — [5] van der Meulen, J. H.: Chem. Weekbl. **28**, 82 (1931); vgl. diese Z. **91**, 46 (1933). — [6] Schulek, E.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 74 (1948); Magyar Kémiai Folyóirat **58**, 193 (1952); vgl. diese Z. **129**, 423 (1949). — [7] di Stefano, F.: Ann. Chim. applicata **26**, 515 (1936); vgl. diese Z. **113**, 452 (1938). — [8] Szabó, Z.: diese Z. **84**, 24 (1931); **90**, 189 (1932); Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 112 (1951). — [9] Szabó, Z. G., u. L. Csányi: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **6**, 208 (1952); vgl. diese Z. **138**, 204 (1953). — [10] Szekeres, L.: Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 249 (1954); vgl. diese Z. **147**, 141 (1955). — [11] v. Weszelszky, J.: diese Z. **39**, 81 (1900). — [12] Winkler, L. W.: diese Z. **39**, 85 (1900).

Prof. Dr. Ladislaus Szekeres, Budapest, VII. Peterdy u. 12 (Ungarn)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

III. Analyse organischer Stoffe

Literatur. R. P. Linstead und B. C. L. Weedon, *A Guide to Qualitative Organic Chemical Analysis*. XI, 169 Seiten. Butterworths Scientific Publications, London (ausgegeben von I. R. Maxwell & Co., Ltd., 4 & 5, Fitzroy Square, London W 1) 1956. Preis 1,10 £.

Die kleine Einführung in die qualitative organische chemische Analyse ist aus Vorlesungen hervorgegangen, die die Verff. am Imperial College of Science and Technology, London, gehalten haben. Das Buch ist demnach dem Unterrichtsplan an dieser Schule angepaßt. Es enthält Reaktionen und Nachweismethoden für die wichtigsten funktionellen Gruppen und gibt auch kurze Hinweise für die Auftrennung gemischter Proben in die Einzelbestandteile. Die Gruppierung erfolgt auf Grund der in den Verbindungen vorhandenen Elemente. Auf die Verbindungen, die nur aus Kohlenstoff und Wasserstoff (sowie gegebenenfalls Sauerstoff) bestehen, folgen solche, die außerdem Stickstoff, Halogen, Schwefel oder auch Metalle enthalten. Seltener vorkommende funktionelle Gruppen, sowie Derivate von Fluor und Phosphor, Alkaloide, Steroide, verschiedene Heterocyclen usw. bleiben unberücksichtigt. Im Anhang sind in Tabellen die Schmelzpunkte von etwa 800 einfachen organischen Verbindungen und ihren zur Identifizierung geeigneten Derivaten zusammengestellt.

J. Mitchell jr., I. M. Kolthoff, E. S. Proskauer und A. Weissberger, *Organic Analysis*. III. Band. VIII, 546 Seiten. Interscience Publishers, Inc., New York 1956. Preis 11,50 $.

Der vorliegende 3. Band des wertvollen Sammelwerkes[1] enthält folgende Beiträge: J. Mitchell jr., B. A. Montague und R. H. Kinsey, *Bestimmung von organischen Säuren* (Neutralisation, Oxydations-, Verdrängungsmethoden, aquametrische, gravimetrische Methoden, Polarographie, Coulometrie, Colorimetrie, UV-, IR-Absorption, Massenspektrometrie, Mikroskopie, Röntgenstrahlenbeugung, Chromatographie, Extraktion, Verteilungsmethoden, Destillation); C. W. Hammond,

[1] Über den 1. und 2. Band vgl. diese Z. **144**, 431 (1955); **150**, 298 (1956).

Bestimmung von Säureanhydriden (Acidimetrische, aquametrische und andere chemische Methoden, physikalische Verfahren); E. F. Hillenbrand jr. und C. A. Pentz, *Bestimmung von Aminen, Amiden und verwandten Verbindungen* (Imiden, Iminen und quaternären Ammoniumverbindungen); A. Polgár und J. L. Jungnickel, *Bestimmung der olefinischen Unsättigung* [Chemische Methoden, instrumentelle Methoden (IR-Absorption, Ramansprektroskopie, UV-Absorption, Massenspektrometrie, Polarographie), Chromatographische Methoden], V. H. Dibeler, *Analytische Massenspektrometrie* (Anwendungen in der qualitativen und quantitativen Analyse, nichtflüchtige organische Materialien); O. D. Shreve, *Synthetische organische Überzugsharze, Analytische Charakterisierung und Bestimmung einiger kommerziell wichtiger Klassen.* — Wie in den vorhergehenden Bänden sind auch hier an die einzelnen Beiträge ausführliche Literaturverzeichnisse angeschlossen. Am Schluß des Buches befindet sich ein Sachregister für alle 3 bisher erschienenen Bände des Sammelwerkes.

F. Feigl, *Spot Tests in Organic Analysis.* Translated by R. E. Oesper. Fifth, enlarged and revised English Edition. XX, 616 Seiten. Elsevier Publishing Comp., Amsterdam 1956. Preis 29,— Hfl.

Anläßlich der Besprechung der 4. Auflage der „Tüpfelreaktionen" ist auf das erstaunliche Anwachsen besonders des organischen Teiles des Werkes hingewiesen worden[1]. Diese Entwicklung setzt sich fort, die vorliegende 5. Auflage des organischen Teiles hat trotz verschiedener raumsparender Maßnahmen wieder um 180 Seiten zugenommen. Es ist ein stattliches selbständiges Handbuch geworden, das demnach auch unter eigenem Titel erscheint. Die Erweiterung des Umfanges betrifft alle Hauptkapitel des Werkes, darunter z. B. die Vorprüfungsreaktionen, die Nachweise der funktionellen Gruppen sowie der individuellen organischen Verbindungen und schließlich die Anwendungen der Tüpfelreaktionen für besondere technische und wissenschaftliche Zwecke. Viele von Feigl und seinen Mitarbeitern neu aufgefundene Reaktionen sind in dem Werk erstmalig veröffentlicht. Das ausgezeichnete Werk von Feigl bedarf keiner besonderen Empfehlung. Es ist längst zu einem unentbehrlichen Standardwerk geworden.

H. Röck, *Ausgewählte moderne Trennverfahren zur Reinigung organischer Stoffe* (2. Band der Sammlung „Fortschritte der physikalischen Chemie", herausgegeben von W. Jost). VIII, 169 Seiten mit 114 Abbildungen in 141 Einzeldarstellungen und 33 Tabellen. Verlag von Dr. Dietrich Steinkopff, Darmstadt 1957. Preis 24,— DM.

In der vorliegenden Monographie werden in einzelnen, in sich abgeschlossenen Kapiteln vier Trennverfahren behandelt, nämlich das Ionenschmelzverfahren zur Reinigung organischer Substanzen, die Verdrängungs-Adsorptions-Chromatographie (flüssig), die Gaschromatographie und die Thermodiffusion in flüssiger Phase. Die Verfahren bilden das Programm, das in einem Praktikum über Trenn- und Reinigungsmethoden an der Universität Göttingen von fortgeschrittenen Studierenden zu erledigen ist. Bei jedem Verfahren werden in der Monographie die theoretischen Grundlagen eingehend erläutert, dann folgen die Beschreibungen der Apparatur, der experimentellen Durchführung usw. Am Ende jedes Kapitels ist die zugehörige, bis Mitte 1956 berücksichtigte Literatur zusammengestellt. Ein großes einleitendes Kapitel bringt das Allgemeine über Trennverfahren zur Substanzreinigung. Das sorgfältig abgefaßte Büchlein kann über den Praktikumsunterricht hinaus bei allen einschlägigen Arbeiten wertvolle Dienste leisten.

A. Kurtenacker

[1] Vgl. diese Z. **143**, 279 (1954).

1. Elementaranalyse

Die Mikrobestimmung von aktivem Wasserstoff in organischen Verbindungen führt A. F. Colson[1] mit Lithiumaluminiumhydrid durch. Für eine Bestimmung werden 3–10 mg Substanz benötigt. Die Umsetzung erfolgt in einer Apparatur, die vom Verf. für die katalytische Mikrohydrierung beschrieben wurde[2]. Als Lösungsmittel dienen Di-n-butyläther und N-Äthylmorpholin. Sie werden zunächst über Calciumhydrid getrocknet, dann 1 Std mit Lithiumaluminiumhydrid (1 g/l) auf 90° C erhitzt und im Vakuum abdestilliert. Das gewöhnliche pulverförmige Lithiumaluminiumhydrid ist für die Bestimmung ungeeignet, es wird daher noch gereinigt. Hierzu werden 10 g des Pulvers mit etwa 200 ml trockenem Äther mehrere Stunden unter Rückfluß erhitzt. Die abgekühlte Lösung wird durch ein Eintauchfilter in einen trockenen Destillierkolben filtriert. Vom Filtrat wird das Lösungsmittel weitgehend abdestilliert und der zurückbleibende Sirup im Vakuum auf 70° C erhitzt, um den restlichen Äther zu entfernen. Der trockene Rückstand wird zerkleinert, durch Platingaze gesiebt und in Mengen von etwa 30 mg in Ampullen gebracht, die mit trockenem Stickstoff gefüllt und abgeschmolzen werden. Die Verbindung kann in dieser Form jederzeit zur Umsetzung verwandt werden. In der bereits beschriebenen Apparatur[2] wird die Probe mit der $LiAlH_4$-Lösung vermischt und der entwickelte Wasserstoff gemessen ($4\ RH + LiAlH_4 \rightarrow LiAlR_4 + 4\ H_2$) Die Prüfung der Methode an *Säuren, Alkoholen, Phenolen und Aminen* ergab eine Fehlergrenze von 3—4%. Eva Neuhaus

Stickstoffbestimmung. *Bei der Verbrennung von Verbindungen wie Thiazolen und Pyrimidinen* gibt bekanntlich die *Pregl-Dumas-Methode* zu niedrige Stickstoffwerte. M. Fukuda[3] fand, daß man zu befriedigenden Ergebnissen kommt, wenn man die Probe in ein Quarzschiffchen einwägt, dann statt mit Kupferoxyd mit graugrünem Nickeloxyd bedeckt und verbrennt[4]. Eva Neuhaus

Über den Säurebedarf beim Kjeldahlaufschluß stellte R. B. Bradstreet[5] eingehende Untersuchungen an und fand, daß sowohl die organische Substanz als auch verschiedene Zusätze, die zur Beschleunigung des Aufschlusses hinzugefügt werden, beträchtliche Mengen Schwefelsäure verbrauchen. Kohlenhydrate benötigen 7,5 g, Proteine 9,0 g und Fette 17,8 g Schwefelsäure je Gramm Substanz. Weiter verbrauchen 10 g Kaliumsulfat, das zur Erhöhung der Digestionstemperatur zugesetzt und in Kaliumhydrogensulfat übergeführt wird, 5,6 g Schwefelsäure, Natriumthiosulfat (Pentahydrat), das als Reduktionsmittel zugesetzt wird, erfordert je 5 g Salz 16,0 g Schwefelsäure. Salicylsäure, die ebenfalls als Reduktionsmittel verwendet wird, benötigt je Gramm 10 g Schwefelsäure. Da weiter in etwa 90 min 3,2 g Schwefelsäure abdestillieren, so beträgt der Verlust zufolge der Zusätze allein 19,8 ml 95%ige Schwefelsäure. Somit verbleiben bei einer Vorlage von 30 ml konz. Schwefelsäure nur 9,2 ml Schwefelsäure zur Zersetzung der Probe, was insbesondere bei großen Einwaagen an organischer Substanz nicht immer ausreichend ist. Bei Schwefelsäuremangel nimmt das Verhältnis Salz zu Säure stark zu, die Temperatur der Aufschlußlösung steigt überaus stark an. Hierdurch wird die oxydierende

---

[1] Analyst **82**, 358—362 (1957). Imperial Chem. Industries Ltd. Winnington, Northwich, Cheshire (Großbritannien).

[2] Colson, A. F.: Analyst **79**, 298 (1954); vgl. diese Z. **145**, 307 (1955).

[3] J. pharmac. Soc. Japan **76**, 1041—1044 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Univ. Osaka (Japan).

[4] Die Anwendung von Nickeloxyd ist von W. Kirsten wiederholt empfohlen worden [vgl. u. a. diese Z. **138**, 280 (1953); **142**, 71 (1954); **153**, 286 (1956)].

[5] Analyt. Chemistry **29**, 944—947 (1957). Bradstreet Labs., Inc., Cranford, N. J.

Wirkung der Schwefelsäure erhöht und es kommt zu einer partiellen Oxydation von Ammoniumsulfat und zu Stickstoffverlusten. Um dies zu vermeiden, sollen am Ende der Bestimmung noch 7,5—10 ml freie Schwefelsäure vorhanden sein. Wird jedoch die Aufschlußlösung beim Abkühlen fest, so ist mit Stickstoffverlusten zu rechnen. G. Kainz

Eine Methode zur Mikrobestimmung von Schwefel in organischen Verbindungen die außerdem Stickstoff enthalten, beschreibt W. H. S. Massie[1]. Etwa 5 mg der Substanz werden verbrannt, die entstandene Schwefelsäure wird mit Bariumacetat konduktometrisch titriert. Bei Verwendung eines Spiralrohres nach Pregl zur Verbrennung, wird dieses nach dem Abkühlen 3 mal mit je 5 ml Wasser ausgespült, die vereinigten Waschwässer werden zur Zerstörung von Wasserstoffperoxyd gekocht. Dann werden 5 ml Äthanol und ein Tropfen Methylrotlösung (gesättigte Lösung in n/60 Natronlauge) zugefügt; man titriert mit ~ 0,04 n Ammoniak bis zum Neutralpunkt. Anschließend erfolgt die konduktometrische Titration mit 0,1 n Bariumacetatlösung. Die Methode hat eine Genauigkeit von ± 1%.

Eva Neuhaus

Eine Methode zur Mikrobestimmung von Halogenen durch trockene Verbrennung der Probe, Absorption durch metallisches Zink und potentiometrische Titration wird von W. J. Kirsten[2] beschrieben. In einem feuchten Sauerstoffstrom werden Chlor, Brom und Jod als ihre Wasserstoff- und Sauerstoffverbindungen von granuliertem Zink bei 50° C quantitativ absorbiert, die Zinkhalogenide werden mit Essigsäure eluiert und anschließend maßanalytisch bestimmt. Stickstoff und Phosphor stören nicht. Schwefeloxyde werden teilweise auch absorbiert. Vor der Halogenbestimmung oxydiert man die niederen Schwefelsäuren zu Sulfat. — *Arbeitsweise.* Das Absorptionsrohr der Apparatur wird etwa zur Hälfte mit granuliertem Zink (20 mesh) gefüllt, mit einem Wassertropfen (30 μl) beschickt, an das Verbrennungsrohr angeschlossen und in einem kurzen Ofen auf 50° C erhitzt. Anschließend wird die Probe (etwa 2—5 mg) eingebracht und in 7—10 min im Sauerstoffstrom verbrannt. Der Sauerstoff wird vor dem Eintritt in das Verbrennungsrohr durch einen Druckregler, Blasenzähler, Vorwärmer, durch Natronkalk und eine Waschflasche, die mit Wasser beschickt ist, geleitet. Mit Hilfe des Druckreglers wird die Fließgeschwindigkeit auf 35 ml/min eingestellt. Ein Quecksilbermanostat, der an das Absorptionsrohr angeschlossen ist, wird so eingestellt, daß die Verbrennungsgase mit einer Geschwindigkeit von 50 ml/min abfließen. Die Verbrennung wird bei 1000° C durchgeführt. Aschehaltige Verbindungen werden mit Vanadiumpentoxyd vermischt und bei erhöhter Temperatur (1000°—1100° C) verbrannt. Nach vollständiger Verbrennung wird das Absorptionsrohr abgehängt und die Zinkfüllung mit 1 ml 25%iger Essigsäure sorgfältig gespült, man saugt die Essigsäure 3 mal im Rohr hoch. Mit 2 ml Wasser wird nachgewaschen. Zur Bestimmung von Chlorid spült man anschließend portionsweise mit 8 ml 99,5%igem Alkohol in der beschriebenen Weise. Sollen Bromid oder Jodid bestimmt werden, wird an Stelle des Alkohols Wasser (5 ml) zum Nachspülen verwendet. Die vereinigten Eluate und Waschwässer werden mit 1 ml 20%iger Schwefelsäure versetzt und mit 0,1 n $AgNO_3$-Lösung in üblicher Weise potentiometrisch titriert (Mikrobürette). Bei Gegenwart von Schwefel in der Probe leitet man vor der Titration 5 min lang Sauerstoff durch das Eluat (für die Jodbestimmung wird dabei das Eluat mit 0,5 ml 2,5%iger Hydrazinsulfatlösung versetzt). Zur Reinigung saugt man durch das Absorptionsrohr nacheinander jeweils 5 ml Essigsäure, Alkohol und Äther. Nach den mitgeteilten Analysenzahlen beträgt die Genauigkeit der Methode einige Zehntel Prozente.

K. Machner

[1] Analyst **82**, 352—358 (1957). Heriot-Watt College, Edinburgh (Großbritannien).
[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 289—295. Univ. Uppsala (Schweden).

Zur Bestimmung von Fluor in organischen Substanzen haben R. Belcher und A. M. G. Macdonald[1] die früher angegebene Methode[2] umgearbeitet. Die Probe wird in einer Nickelbombe durch Schmelzaufschluß mit metallischem Natrium oder Kalium zersetzt, das Fluor anschließend als Bleichlorfluorid mit einer Lösung von Bleichlornitrat gefällt und gewichtsanalytisch bestimmt. Die Methode eignet sich sehr gut für Routineanalysen und kann ohne Abänderung auf halogen- und stickstoffhaltige Substanzen angewendet werden. Phosphat und Sulfid stören und müssen vorher durch Fällung mit Zinkoxyd abgetrennt werden. — *Arbeitsweise.* Die Probe mit einem Fluorgehalt von 10—30 mg wird mit 300 bis 500 mg metallischem Natrium in einer Nickelbombe (die mit einer Kupfer-Asbest-Dichtung versehen ist) 60—75 min in einem Muffelofen bei 600—650° C geschmolzen (Fluorkohlenstoffverbindungen sowie ringförmige oder langkettige Perfluorkohlenwasserstoffe werden an Stelle von Natrium mit metallischem Kalium aufgeschlossen). Man löst die abgekühlte Schmelze vorsichtig in Äthylalkohol (gegebenenfalls unter Zugabe einiger Tropfen Wasser), spült die Lösung mit dest. Wasser in einen Becher, filtriert durch ein Pregl-Filter Nr. 1, gibt zum Filtrat einige Tropfen Methylrotindicator und neutralisiert durch tropfenweise Zugabe von 5 n Salpetersäure. Bei Gegenwart von Phosphor oder Schwefel in der Probe wird die alkoholische Lösung der Schmelze (nicht mehr als 30 ml) unter Verwendung eines p_H-Meßgerätes mit 5 n Salpetersäure auf p_H 5 ± 0,3 eingestellt. Anschließend spült man die Elektroden mit 10—15 ml Wasser, gibt zu der erhaltenen Lösung nacheinander 3 Tropfen 5 n Salpetersäure, 3 Tropfen 30%ige Essigsäure und 0,8 g festes Zinkoxyd, erhitzt das Reaktionsgemisch bis fast zum Sieden und läßt dann 20—30 min unter gelegentlichem Schütteln (alle 5 min) abkühlen. Der Niederschlag wird über Filterschleim abfiltriert und mit heißem Wasser ausgewaschen. — Zur Fällung des Fluors werden die erhaltenen Filtrate (ihr Volumen darf nicht mehr als 80 ml betragen) bis fast zum Sieden erhitzt und mit 1 ml 30%iger Essigsäure versetzt. Man fällt unter ständigem Rühren mit 50 ml heißer Bleichlornitratlösung [10,5 g $PbCl_2$ und 13 g $Pb(NO_3)_2$ werden unter Erwärmen in 1 l Wasser gelöst], bis sich der Niederschlag zu bilden beginnt, kocht auf (bei bedecktem Becher) und läßt über Nacht abkühlen. Der Niederschlag wird durch einen Glasfiltertiegel (G 4) filtriert, nacheinander jeweils 2 mal mit 10 ml gesättigter Bleichlorfluoridlösung und mit 10 ml Aceton gewaschen und bei 110° C 30 min getrocknet (Umrechnungsfaktor = 0,07263). Nach den mitgeteilten Analysenzahlen beträgt der durchschnittliche Fehler der Methode 0,16%. K. Machner

Über eine Halbmikromethode zur Bestimmung von Jod in organischen Verbindungen, die auch andere Halogene enthalten, berichtet A. Kondo[3]. Der Verf. schließt die organische Substanz (etwa 10—31 mg) mit Natriumperoxyd in der Mikrobombe nach A. Elek und D. W. Hill[4] auf, löst die Aufschlußmasse in Wasser und zersetzt das anwesende Wasserstoffperoxyd katalytisch durch Kochen mit einer Platinfolie. Nach Abfiltrieren der festen Rückstände wird der p_H-Wert des Filtrats mit konz. Salzsäure auf etwa 1 eingestellt und Palladium(II)-chlorid + Hydrazin hinzugefügt. Hierbei fällt Palladium(II)-jodid aus. Zur Vervollständigung der Fällung läßt man noch einen Tag stehen und filtriert, wäscht und trocknet sodann den Niederschlag. Der Fehler der Bestimmung ist geringer als 0,3%. G. Kainz

---

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 510—519. Univ. Birmingham (England).

[2] Belcher, R., und J. C. Tatlow: Analyst **76**, 593 (1951); vgl. diese Z. **137**, 45 (1952/53).

[3] Jap. Analyst **6**, 238—240 (1957) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Inst. of Technology, Tokyo (Japan).

[4] J. Amer. chem. Soc. **55**, 2550 (1933); vgl. diese Z. **100**, 429 (1935).

IV. Spezielle analytische Methoden

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Novocain, Anästhesin und verschiedene Sulfonamide werden von E. Zöllner und G. Vastagh[1] colorimetrisch bestimmt. Hierzu wird die primäre Aminogruppe diazotiert und in alkal. Lösung mit Thymol gekuppelt. Wesentlich dabei ist, daß man überschüssiges Nitrit zerstört, da es mit Thymol eine Gelbfärbung gibt. — *Ausführung.* In einen 100 ml-Meßkolben werden 5—10 ml der Lösung gegeben, die 0,020—0,200 mg Amin enthalten. Man säuert mit 2,5 ml 10%iger Salzsäure an, versetzt im Eisbad mit 5 ml 0,5%iger Natriumnitritlösung und läßt das Gemisch 5 min stehen. Dann nimmt man den Kolben aus dem Eisbad und gibt etwa 1 g Harnstoff hinzu, läßt unter häufigem Umschütteln 15 min stehen und gibt nach beendeter Gasentwicklung 1 ml 0,5%ige Thymollösung in 10%iger Natronlauge hinzu und gleich anschließend 5 ml 10%ige Natronlauge. Nach 10 min wird mit Wasser aufgefüllt und die Extinktion im Pulfrich-Photometer in 2 cm-Küvetten mit Farbfilter S. 47 bestimmt. Die orangegelbe Färbung ist beständig. Als Vergleichslösung dient ein Gemisch der angegebenen Reagenslösungen, welches den gleichen Bedingungen unterworfen wird und farblos sein soll. — *Zur Bestimmung von Sulfonamiden in Tabletten* löst man 0,1 g der pulverisierten Probe in 5 ml 10%iger Salzsäure *(Sulfanilamid, Sulfaguanidin, Sulfadimethylpyrimidin)* bzw. in 5 ml 10%iger Natronlauge *(Sulfamethylthiazol)*, füllt mit Wasser auf 500 ml auf und verwendet 1 ml für die colorimetrische Bestimmung. Borsäure, Harnstoff (in Wundstreupulver) stören nicht. Von zu untersuchender *Salbe (Ultraseptylsalbe)* versetzt man 0,05 g in einem 100 ml-Meßkolben mit 3 ml Petroläther, füllt mit 0,5%iger Natronlauge zur Marke auf, schüttelt gut durch und arbeitet mit 5 ml der wäßrigen Lösung weiter. — Die *Bestimmung von p-Aminobenzoesäure* (PAB) gelingt *neben Procain* oder *Anästhesin*, indem man 5 ml der Lösung mit 5—6 Tr. 10%iger Ammoniaklösung versetzt, 5mal mit je 20 ml Chloroform ausschüttelt und die wäßrige Phase wie beschrieben weiter behandelt. Adrenalin oder Natriumdithionit, die in Injektionslösungen vorkommen, stören nicht. In Gegenwart von Natriumthiosulfat bringt man die wäßrige Phase nach dem Neutralisieren mit Salzsäure gegen Methylorange mit Pufferlösung auf p_H 3,3—3,5, schüttelt PAB 5mal mit je 20 ml Äther aus und erhitzt nach Verdampfen des Äther weiter wie angegeben. Die Genauigkeit der Methode beträgt im wesentlichen ± 1%.

Eva Neuhaus

Der Nachweis einiger Sympathicomimetica auf Papierchromatogrammen kann nach H. C. Skaliks[2] mit *Natrium-β-naphthochinon-sulfonat* (I) (Folins Reagens auf Aminosäuren)[3] durchgeführt werden. Man entwickelt mit einer Mischung von Isobutanol/Ameisensäure (98—100%ig)/Wasser (100:12:10), die 14 Tage bei Raumtemperatur gestanden hat, trocknet mit Föhn oder an der Luft und besprüht mit einer 30 min vor der Anwendung bereiteten, 5% wasserfreie Soda enthaltenden 0,2%igen Lösung von I. Es ergeben sich folgende R_B-Werte und Farben: *l-Noradrenalin* 0,09 grau, *Adrenalin* 0,09 rötlichbraun, *Sympatol* (WZ) 0,21 orange, *Aludrin* (WZ) 0,23 braun, *Adrianol* (WZ) 0,25 lachsfarben, *Effortil* (WZ) 0,33 lilabraun, *Norephedrin* 0,33 pariserblau, *Veritol* (WZ) 0,41 lilarot, *Ephedrin* (WZ) 0,50 graublau, *Elastonon* (WZ) 0,58 graublau, *Pervitin* (WZ) 0,62 rosa, *Vasculat* (WZ) 0,66 grau. Die Bezugssubstanz (R_B = 1) ist Antipyrin. K. Söllner

---

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **96**, 199—206 (1957). Staatl. Inst. für Hygiene, Budapest (Ungarn).

[2] Arzneimittel-Forsch. **7**, 386—387 (1957). Univ. Freiburg/Br.

[3] Siehe Müting, D.: Naturwissenschaften **39**, 303 (1952); vgl. diese Z. **138**, 376 (1953).

Alkaloide. H. Bräuniger und L. Honerjäger[1] besprechen im 6. und 7. Teil ihres Sammelreferates[2] die in den letzten Jahren veröffentlichten Arbeiten über *papierchromatographische Trennungs- und Bestimmungsverfahren von Pflanzenalkaloiden* (99 Literaturzitate). K. Söllner

Quantitative oscillographisch-polarographische Analysen von Alkaloiden, die sich bewährt haben, hat L. Molnár[3] zusammengestellt. Aufgeführt sind die Analyse der *Veratrum-Alkaloide* in 1 n Lithiumchloridlösung, der *China-Alkaloide* und einiger Derivate an der strömenden und an der Tropfelektrode, sowie an der Zwillingselektrode mit dem Zweistrahloscillographen in 1 n LiOH-, LiCl- bzw. NaOH-Lösung. 1 nHCl-Lösung als Elektrolyt ist manchmal verwendbar. Auch die Analyse einiger *3- und 17-Ketosteroide* ist angeführt. Die Bestimmung von *Benzaldehyd, Phenylacetylcarbinol* und des Gleichgewichtszustandes zwischen dem letzten, der zugehörigen Schiffschen Base und Methylamin ist möglich. Es handelt sich in sämtlichen Fällen um Anwendungen der Methode nach Heyrovský, d. h. um die Analyse aus den Einschnitten der elliptischen Oscillogramme, welche im Original wiedergegeben sind. K. Cruse

Zur papierchromatographischen Reinheitsprüfung des Cocains und seiner Salze schlagen J. Büchi und H. Schumacher[4] folgende *Arbeitsweise* vor. Man verdünnt 1,00 ml einer 0,0225 g Cocain enthaltenden Lösung mit 1,00 ml Alkohol, bringt 0,1 ml dieser Verdünnung (entsprechend etwa 560 μg Cocain) auf den Startpunkt eines Streifens Whatman-Papier Nr. 1 und chromatographiert nach einem früher von Verff. beschriebenem Verfahren[5]. Beim Besprühen mit *Dragendorff*-Reagens (siehe unten) darf nur ein Farbfleck mit dem R_f-Wert etwa 0,60 sichtbar werden. Sinngemäß arbeitet man auch mit den Salzen des Alkaloides. Das Verfahren läßt sich auch auf die Untersuchung von Coca-Extrakten anwenden. *Dragendorff-Reagens:* A. Man löst 850 mg Wismutsubnitrat in 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig. B. Man löst 8 g Kaliumjodid in 20 ml Wasser. Gebrauchslösung: Man mischt je 5 ml A. und B. mit 20 ml Eisessig und 100 ml Wasser. Das Reagens weist noch 5 μg Tropacocain mit Sicherheit nach.

Die polarographische Bestimmung der Einzelalkaloide von Cotarnin-Narcotin- bzw. Hydrastinin-Hydrastin-Gemischen führen J. Holubek und J. Volke[6] durch Modifizierung eines früher von ihnen bekanntgegebenen Verfahrens[7] durch. — *Arbeitsvorschrift.* Man erhitzt 10 ml einer Lösung des Cotarnin-Narcotin-Gemisches ($c = 5 \cdot 10^{-4}$ m bis $2 \cdot 10^{-3}$m) in 0,9 m Salpetersäure zur Spaltung des Narcotins 25 min lang auf dem siedenden Wasserbad, alkalisiert nach dem Abkühlen mit 4 ml 20%iger Kalilauge, setzt 0,3 ml 0,5%ige Gelatinelösung zu und entfernt den gelösten Sauerstoff durch einen Stickstoffstrom. Bei der nunmehr nach dem früher beschriebenen Verfahren aufgenommenen polarographischen Kurve entspricht die erste bzw. erste und zweite Stufe der Summe beider Alkaloide. Nun wiederholt man die gleiche Prozedur, ohne jedoch den Ansatz zu erhitzen. Die Höhe der hierbei erhaltenen Stufe der Polarisationskurve ergibt nur den Cotarninwert, so daß durch Subtraktion beider Analysenwerte der ursprüngliche Gehalt an Narcotin errechnet werden kann. Hydrastinin-Hydrastin-Mischungen werden ebenso bearbeitet, jedoch verwendet man zur Herstellung ihrer Lösung 1,6 m Salpetersäure.

---

[1] Pharmazie **12**, 203—212 u. 271—282 (1957). Univ. Rostock.
[2] 4. und 5. Teil: vgl. diese Z. **153**, 156 (1956).
[3] Acta chim. Acad. Sci. hung. **9**, 273—278 (1956). Acad. Wiss., Bratislava (ČSR).
[4] Pharmac. Acta Helvetiae **32**, 194—204 (1957). ETH Zürich (Schweiz).
[5] Pharmac. Acta Helvetiae **32**, 80 (1957); vgl. diese Z. **159**, 378 (1957).
[6] Pharmazie **12**, 261 (1957). Akad. Wissensch. Prag (ČSR).
[7] Pharmazie **11**, 577 (1956); vgl. diese Z. **157**, 235 (1957).

Die papierchromatographische Abtrennung des Aconitins (I) von seinen Hydrolysenprodukten Benzoylaconin (II) und Aconin (III) beschreiben C. Mathis und P. Duquénois[1]. — A. Entwickelt man aufsteigend das in Chloroform gelöste Alkaloidgemisch auf Papier Arches 302 mit einer wassergesättigten (Bedarf etwa 32 ml H_2O) Mischung von 100 ml n-Butanol und 15 ml konz. Salzsäure, so wandern I und II gemeinsam schneller und erreichen den R_f-Wert 0,96, während III mit $R_f = 0{,}84$ zurückbleibt. — B. Zur *Isolierung von I* lassen sich folgende Entwicklungssysteme verwenden: 1. 100 ml Wasser, + 1 g Natriumcarbonat + 11 ml n-Butanol oder 2. 98 ml Wasser + 2 ml 20%iges Ammoniak + 0,5 g Ammoniumchlorid, + 11 ml n-Butanol. Man bringt auf den Startpunkt des etwa 30 cm langen Papierstreifens zunächst 1—2 Tropfen 1%ige Sodalösung, trocknet und trägt anschließend die Lösung der Alkaloide in Chloroform auf. Nun sprüht man in die Chromatographierkammer ammoniak- oder sodahaltiges, butanolgesättigtes Wasser und hängt die Streifen 24—48 Std zur Sättigung in diese Atmosphäre. Daraufhin entwickelt man innerhalb von 40 min mit System 1. oder 2. bis zu einer Laufhöhe von 8 cm. I bleibt in beiden Fällen am Startpunkt während sich II und III in kurzem Abstand hinter der Lösungsmittelfront befinden. Nach dem Trocknen des Chromatogrammes entfernt man I, indem man den Papierstreifen mit dem Startpunkt 5 cm unterhalb der Lösungsmittelfront abschneidet. Dann entwickelt man den Rest des Chromatogrammes mit System A. weiter und erreicht damit die Trennung von II und III. K. Söllner

Zum Nachweis von Reserpin empfiehlt R. C. D'Alessio-de-Carnevale-Bonino[2] folgende Farbreaktion: In einen trockenen Porzellantiegel gibt man etwas von dem kristallisierten Alkaloid oder 1 ml seiner 0,01%igen Lösung, fügt 0,5 ml der Reagenslösung (0,05 g p-Dimethylaminobenzaldehyd + 10 ml Äthanol + 2 Tr. konz. Schwefelsäure) zu und verdampft auf dem Wasserbad zur Trockne. In dem Maße, wie der Alkohol verdampft, treten rote, unmittelbar darauf blaugrüne und blaue Färbungen auf. Der trockene Rückstand ist schwach gelb gefärbt, er wird aber beim Abkühlen blau und löst sich mit derselben Farbe in Wasser, 5%iger Schwefel-, Salz- oder Essigsäure. Die Empfindlichkeit der Reaktion beträgt 5 μg. Yohimbin gibt nach dieser Methode einen rotvioletten Rückstand, der sich in Wasser oder Schwefelsäure entfärbt. Um *Pharmazeutica* auf den Reserpingehalt hin zu untersuchen, extrahiert man das Alkaloid mit Chloroform in der Kälte, filtriert durch feuchtes Filterpapier, entfernt das Lösungsmittel und untersucht wie oben.
I. Pfitzer

Ein fluorimetrisches Verfahren zur Bestimmung kleiner Mengen 11-Desmethoxyreserpin (DMR) beschreiben J. A. Gordon und D. J. Campbell[3]. — *Ausführung.* Man bringt wechselnde Mengen einer Lösung, die 1 μg DMR je ml 5 n Essigsäure (ES) enthält, in Gläser, so daß 0,5—4,5 μg DMR zur Bestimmung kommen, fügt je 1,0 ml 0,001 n Cer(IV)-sulfatlösung in 0,1 n Schwefelsäure zu und ergänzt mit 5 n ES auf 10 ml. Nach 1stündigem Erhitzen im siedenden Wasserbad kühlt man, füllt wieder mit 5 n ES auf 10 ml auf und ermittelt die Fluorescenz der Proben mit einem Photofluorimeter, Coleman Modell 12 C, mit den Filtern B_1 und PC_1. Die Werte liegen auf einer Geraden. — Um DMR in Tabletten zu bestimmen, bringt man eine 0,25 mg des Alkaloides entsprechende gepulverte Menge des Analysenmateriales in einen 10 ml 1%ige Natriumhydrogencarbonatlösung enthaltenden Schütteltrichter, extrahiert 3 mal mit je 10 ml Chloroform, verdünnt die vereinigten Auszüge auf 50 ml und dampft hiervon 2 ml im Stickstoffstrom zur Trockne ein.

[1] Ann. pharmac. franç. **14**, 749—755 (1956). Fac. Pharmac., Strasbourg.
[2] Rev. Asoc. bioquím. argent. **20**, 229—232 (1955). Fac. Ci. Med., Buenos Aires.
[3] Analyt. Chemistry **29**, 488—490 (1957). Abbott Labs., North Chicago, Ill. (USA).

Der in 5 n ES gelöste Trockenrückstand wird, wie oben beschrieben, weiterbehandelt. Analog verfährt man mit DMR enthaltenden Lösungen für Injektionen und zum Einnehmen. K. Söllner

4. Analyse von biologischem Material

Literatur. H. Linser und O. Kiermayer, *Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchsstoffe.* 181 Seiten mit 98 Abbildungen, Springer-Verlag Wien 1957. Preis Ganzleinen 33,— DM.

Verff. haben sich die Aufgabe gestellt, die umfangreiche und weit zerstreute Literatur der letzten 25 Jahre über pflanzliche und synthetische Zellstreckungswuchsstoffe so darzustellen, daß die Methoden im Laboratorium ausgeführt werden können, ohne auf Originalarbeiten zurückzugreifen. Einer Einleitung über Entwicklung und allgemeine Beurteilung werden Methoden zur Wuchsstoffgewinnung aus der Pflanze angefügt, unter besonderer Berücksichtigung von Extraktionsmethoden. — Zur Erkennung von Wuchsstoffen und ihrer Wirksamkeit ist es unbedingt erforderlich, sie abzutrennen, da in jüngerer Zeit auch die gleichzeitige Existenz von „Hemmstoffen" bewiesen worden ist. Diesem Abschnitt wird daher erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt und die Darstellung auf folgende Methoden ausgedehnt: Trennung auf Grund verschiedener Löslichkeit, durch Wuchsstoff-Inaktivierung, Diffusion, Säulen- und Papierchromatographie und -elektrophorese, Elektrodialyse, Sublimation sowie mittels der Gegenstromverteilung. Auch die chemischen Bestimmungsmethoden der Wuchsstoffe sind gebührend berücksichtigt, indem colorimetrische, fluorimetrische und histochemische Methoden neben dem Photoprintverfahren Erwähnung finden. — Es liegt in der Natur der Sache, daß sich die Untersuchung in besonderem Maße physiologischer Methoden bedient. Ausgehend vom „klassischen" Avena-Test werden zum qualitativen und quantitativen physiologischen Nachweis unter anderem Methoden der Krümmungsmessung, Längenwachstumsmessung und Wurzelwachstumsteste eingehend erörtert. Abschließend wird noch eine Methode zur Molekulargewichtsbestimmung von Wuchsstoffen (Diffusion) beschrieben und auch kurz auf die Verwendung von Radioisotopen in der Wuchsstofforschung eingegangen. Besonders hervorgehoben zu werden verdient die Tatsache, daß zahlreiche Methoden einer Kritik über Spezifität bzw. Eignung unterzogen werden. Außerdem werden zur Erzielung einer brauchbaren Vergleichsbasis die in der Literatur verschiedenartig wiedergegebenen Konzentrationskurven in Abbildungen zeichnerisch vereinheitlicht. — Die Darstellung dieses komplexen botanisch-chemischen Arbeitsgebietes ist den Verff. in vorbildlicher Weise gelungen und wird das Interesse zahlreicher Kreise wecken.

M. Büchner und H.-Ch. Gabsch, *Moderne Methoden in der Klinik unter besonderer Berücksichtigung physikalisch-chemischer Analysenverfahren.* IX, 268 Seiten mit 149 Abbildungen. Verlag G. Thieme, Leipzig 1956. Preis geb. 32,70 DM.

Die einführend in knapper Form geschilderten Grundlagen der elektrochemischen Methoden stellen trotz ihrer Kürze die wesentlichsten Punkte heraus. Im Anschluß an die p_H-Messung und Charakterisierung der notwendigen Elektroden wird die in zunehmendem Maße in der Praxis Eingang findende Polarographie erörtert. Neben den Grundlagen wird ausführlich auf die für das klinische Laboratorium wichtigen polarometrischen (amperometrischen) Titrationsverfahren eingegangen. Unter anderem finden sich hier Bestimmungen von Hydroperoxyd, O_2 im Blut, Ascorbinsäure, Cystin in Serum und Harn, von Hormonen und Cu, Pb und Zn im Blutplasma. Begrüßenswert ist die Anfügung einer 11seitigen Schrifttumsübersicht zum Kapitel Polarographie, in welchem Literaturstellen bis 1956 verarbeitet sind. Die im Anschluß daran dargestellte Elektrophorese ist ebenfalls eingehend behandelt. Die verschiedenen Apparaturen sind abgebildet. Auch auf die quantitative Auswertung

wird ausführlich eingegangen. Erwähnt werden die Trennungen u. a. von Serumeiweißkörpern, proteinarmen Flüssigkeiten (Urin, Liquor usw.), Aminosäuren, Arzneimitteln (wie Morphium, Chelidonium). Das Kapital über Papierchromatographie greift neben der Darstellung methodischer Grundlagen aus der Zahl der Untersuchungsverfahren solche über Aminosäuren, Kohlenhydrate und Ketonkörper sowie über die Bestimmung von Harnstoff, Porphyrinen, Gallenfarbstoffen und Suchtmitteln in Harn und Blut heraus. Auf die ausführlichen Schrifttumsnachweise zu den Kapiteln Elektrophorese und Papierchromatographie sei besonders hingewiesen. Zur Flammenphotometrie werden für Na, K und Ca kurze praktische Hinweise gegeben, unter Hervorhebung der Aufstellung von Eichkurven. — Im Abschnitt „Komplexometrie" teilen Verff. Arbeitsvorschriften mit zur Durchführung einer kombinierten komplexometrischen Bestimmung von Ca-Mg sowie von anorganischem Phosphor in Serum. — Auch die Bestimmungsmethoden der klinisch wichtigen Steroide (insbesondere C-17-Körper) und der NNR-Hormone (Nebennierenrinden-Hormone mit „Kortin"-Wirkung) finden gebührende Berücksichtigung. — Über die Aufnahme der „Fibrinabbaumethode nach NITSCHE", einer Methode, die zur Zeit noch heftiger Kritik unterworfen ist, kann man verschiedener Auffassung sein. Im Sinne ABDERHALDENS handelt es sich dabei um eine „Abwehr"-Fermentreaktion, die gegebenenfalls zur biochemischen Frühdiagnostik maligner Leiden geeignet ist. In Verbindung mit einem Anhang zur Laboratoriums-Krebsdiagnostik in chemischer Sicht, in welchem die Verff. in Kürze zu verschiedenen Testen in dieser Richtung Stellung nehmen, scheint aber die Erwähnung der Fibrinabbaumethode durchaus gerechtfertigt zu sein. — Trotz des dem Buche vorangestellten Inhaltsverzeichnisses wäre es für eine weitere Auflage wünschenswert, ein alphabetisches Register einzufügen. — Das Buch, aus der Feder eines Chemikers, ist durchaus geeignet, über den Rahmen des klinischen Labors hinaus in Fragen der biochemischen Analyse zu Rate gezogen zu werden. R. RITTER

D. GLICK, *Methods of Biochemical Analysis. Band III.* IX, 437 Seiten. 1956. Preis 9,50 $. — *Band IV.* VIII, 362 Seiten. 1957. Preis 8,50 $. — *Band V.* VIII, 502 Seiten. 1957. Preis 9,50 $. Interscience Publishers, Inc., New York.

Das vorliegende Werk soll über Fortschritte auf dem Gebiet der biochemischen Analyse unterrichten, und zwar soll etwa alljährlich ein Band mit zwanglosen Beiträgen namhafter Autoren erscheinen, in welchen sie entweder Originalmethoden beschreiben oder über bereits bekannte Verfahren berichten, die überprüft oder bestimmten Zwecken angepaßt worden sind. Arbeitsvorschriften sollen stets so ausführlich gehalten sein, daß ein geübter Fachmann die Bestimmung mit Erfolg durchführen kann, ohne auf weitere Literatur zurückgreifen zu müssen. Im übrigen wird den einzelnen Autoren weitgehend freie Hand in bezug auf die Art der Behandlung ihrer Beiträge gelassen. Alle Beiträge werden mit zum Teil sehr ausführlichen Literaturhinweisen abgeschlossen. Die vorliegenden drei Bände enthalten folgende Beiträge: Band III. O. LINDBERG und L. ERNSTER, *Analyse organischer Phosphorverbindungen durch Phosphatbestimmung;* L. R. STOKSTAD, G. R. SEAMAN, R. J. DAVIS und S. H. HUTNER, *Nachweis von Thioctansäure (6,8-Dithiooctansäure);* CH. F. CODE und F. C. MCINTIRE, *Quantitative Bestimmung von Histamin;* P. PLESNER und H. M. KALCKAR, *Enzymatische Mikrobestimmung von Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin, Adenin und Xanthopterin durch UV-Spektrophotometrie;* J. R. DYER, *Anwendung der Oxydation mit Perjodat in der biochemischen Analyse;* F. SMITH und R. MONTGOMERY, *Endgruppenbestimmung von Polysacchariden;* S. A. BARKER, E. J. BOURNE und D. H. WHIFFEN, *Anwendung der IR-Analyse zur Bestimmung der Struktur von Kohlenhydraten;* J. SCHUBERT, *Messung der Stabilität von Komplexionen mit Hilfe von Ionenaustauscherharzen;* TH. R. HUGHES und I. M. KLOTZ, *Analyse von Metall-Proteinkomplexen;* J. RAAFLAUB, *Anwendung von Metall-*

puffern und Metallindicatoren in der Biochemie; B. G. Malmström, *Bestimmung von Zink in biologischen Materialien;* M. Margoshes und B. L. Vallee, *Flammenphotometrie und Flammenspektrometrie. Grundlagen und Anwendungen.* — Band IV. E. M. Bickoff, *Bestimmung von Carotin;* N. D. Embree, S. R. Ames, R. W. Lehman und Ph. L. Harris, *Bestimmung von Vitamin A;* R. T. Holman, *Bestimmung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren;* R. H. Silber und C. C. Porter, *Bestimmung von 17,21-Dihydroxy-20-ketosteroiden in Urin und Plasma;* C. F. Jacobsen, J. Léonis, K. Linderstrøm-Lang und M. Ottesen, *Der p_H-Stat und seine Anwendung in der Biochemie;* K. S. Dodgson und B. Spencer, *Nachweis von Sulfatasen;* W. H. Fishman und H. M. Davidson, *Bestimmung von Serum-Säurephosphatasen;* E. F. Gale, *Bestimmung von Aminosäuren mit Hilfe von bakteriellen Aminosäuredecarboxylasen;* T. P. Singer und E. B. Kearney, *Bestimmung von Bernsteinsäure-dehydrogenase-Aktivität.* — Band V. K.-B. Augustinsson, *Bestimmungsmethoden für Cholinesterasen;* J. H. Humphrey, D. A. Long und W. L. M. Perry, *Biologische Standards in der biochemischen Analyse;* W. J. P. Neish, *Bestimmung der α-Ketosäuren;* B. E. Saltzman und R. G. Keenan, *Mikrobestimmung von Kobalt in biologischen Materialien;* B. A. Loveridge, und A. A. Smales, *Die Aktivierungsanalyse und ihre Anwendung in der Biochemie;* R. E. Thiers, *Verunreinigung in der Analyse der Spurenelemente und ihre Kontrolle;* W. S. Bauld und R. M. Greenway, *Chemische Bestimmung der Oestrogene in menschlichem Urin;* H. Rosenkrantz, *Infrarotanalyse von Vitaminen, Hormonen und Coenzymen.*

N. L. Allport und J. W. Keyser, *Colorimetric Analysis. Volume One. Determinations of Clinical and Biochemical Significance.* 2. Auflage. XI, 424 Seiten. Verlag Chapman & Hall, Ltd., London 1957. Preis 50 sh.

Die erste Auflage der colorimetrischen Analyse von Allport erschien 1945 in einem Bande, 1947 und 1951 wurden Neudrucke herausgebracht. Die Tatsache, daß die colorimetrische Analyse in den letzten Jahren an Bedeutung und Anwendung stark zugenommen hat, zwang zur Teilung des Werkes in 2 Bände. — Der vorliegende 1. Band enthält mit den entsprechenden Literaturhinweisen kritisch ausgewählte Arbeitsvorschriften für die Bestimmung von etwa 100 verschiedenen Stoffen (alphabetisch angeordnet) in Körperflüssigkeiten, Gewebe und anderem biologischem Material. Ebenso wie in der 1. Auflage wird auch hier auf theoretische Erörterungen sowie auf die Beschreibung von Apparaten verzichtet. Das Werk hat sich bereits bewährt, es wird auch in der neuen Auflage ein wertvoller Helfer bei einschlägigen Untersuchungen sein.

K. Scharrer, *Biochemie der Spurenelemente.* Dritte, vollständig neubearbeitete Auflage. VIII, 404 Seiten mit 8 farbigen Tafeln. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1955. Preis Lw. 39,60 DM.

Das Standardwerk von Scharrer ist in seiner 3. Auflage vollständig neu bearbeitet worden und gibt nun mit mehr als 2600 Literaturzitaten einen umfassenden Überblick über das wichtige Gebiet der physiologischen Chemie, das sich mit der Wirkung der Spurenelemente befaßt. Der analytische Chemiker findet an verschiedenen Stellen Hinweise auf die Bestimmungsmethoden der einzelnen Elemente.

A. Kurtenacker

Calciumbestimmung in biologischen Flüssigkeiten. *Zur direkten photometrischen Ca-Bestimmung* mit dem Farbstoff *Plasmocorinth B* (Dinatrium-1-hydroxy-4-chloro-2,2-diazobenzol-1,8-dihydroxynaphthalin-3,6-disulfonsäure) haben G. R. Kingsley und O. Robnett[1] die Arbeit von F. Yanagisawa[2] überprüft und die günstigsten

[1] Amer. J. clin. Pathol. **27**, 223—230 (1957). School of Med. Los Angeles, Calif.
[2] J. Biochemistry (Tokyo) **42**, 3 (1955); vgl. diese Z. **151**, 372 (1956).

Arbeitsbedingungen festgestellt, die z. T. von denen des genannten Autors abweichen. Magnesiumgehalte bis zu 2 mg/100 ml stören nicht. Lipoide werden durch Ätherextraktion ausgeschaltet. Hohe und niedrige Serumproteingehalte haben keinen Einfluß auf die Bestimmung. Fäcal-Calcium läßt sich nach dieser Methode noch nicht bestimmen. Eine Überarbeitung des Verfahrens in dieser Hinsicht ist in Vorbereitung. Vergleiche mit Calciumbestimmungen in verschiedenen Körperflüssigkeiten von unterschiedlichen Ca-Gehalten (2,50—5,0 und 23—81 mÄqu.) sowie wechselnden Phosphorgehalten (2—138 mg/100 ml) mit anderen Methoden (photoelektrisch und flammenphotometrisch) zeigten sehr gute Übereinstimmung. — *Ausführung.* Man pipettiert 0,1 ml Serum in eine Küvette, die 6 ml alkalische Farbstofflösung (0,1821 g Plasmocorinth B + 1,0 ml 0,1%iger Salzsäure in 100 ml H_2O; 1,0 ml dieser Stammlösung wird unmittelbar vor Gebrauch in einem 50 ml-Meßkolben mit 1 n NaOH-Lösung aufgefüllt) enthält und bei 15° C im Wasserbad steht. Man wischt vor dem Einbringen die Pipette außen sorgfältig ab und spült sie dann 3 mal aus. Falls die Probe abnorme Mengen Lipoide enthält, schüttelt man mit 0,1 ml Äthyläther und zentrifugiert. Den Blindversuch setzt man mit 0,1 ml dest. Wasser in der gleichen Weise an. Man läßt die Küvetten 10 min lang bei 15° C im Wasserbad zur Farbentwicklung stehen, dann photometriert man bei 615 mμ. Die Färbung ist mindestens 30 min beständig. Die Einmeßkurve wird mit Calcium-Testlösung (200 μg Ca/ml) so aufgestellt, daß steigende Mengen (5 bis 35 ml) dieser Lösung auf je 50 ml aufgefüllt werden und davon jeweils 0,1 ml abpipettiert und wie beschrieben verarbeitet werden. Sie reicht von 1—7 mÄqu. Ca/l. Für Urinuntersuchung verdünnt man 0,5—1 ml auf 10 ml und nimmt dann 0,1 ml in Arbeit. Andere Körperflüssigkeiten werden genauso behandelt. H. Pohl

Die flammenphotometrische Calciumbestimmung in Plasma und Urin führen P. P. Poulos und R. F. Pitts[1] indirekt durch, da es wegen der wechselnden Zusammensetzung des Urins unpraktisch ist, die Bestimmung nach Modellösungen durchzuführen. Verff. fällen das Calcium aus dem enteiweißten Filtrat mit Ammoniumoxalat aus und lösen den Niederschlag in Salzsäure. Diese Lösung wird mit einem Beckman DU-Spektralphotometer mit Flammenzusatzgerät untersucht. Gemessen wird die Calciumlinie 422,7 mμ mit einer Spaltbreite von 0,1 mm. Zur Lichtanregung benutzen die Verff. eine Acetylen-Sauerstoffflamme (0,39 at Acetylendruck, 0,77 at Sauerstoffdruck). Ein Vergleich dieser Methode mit einer gravimetrischen und einer titrimetrischen Methode zeigt gute Übereinstimmung.

F. Rosendahl

Über eine Methode zur Plasmadialyse und ihre Anwendung zur Bestimmung der diffundierbaren Calciumfraktion berichtet P. P. Poulos[2]. Das Wesentliche der Apparatur sind ein 22 cm langes und 12 mm weites Glasrohr und ein Dialysierschlauch von engerem Durchmesser, der der Länge nach so in das Glasrohr eingespannt wird, daß genügend Raum für die Außenflüssigkeit bleibt. Die Befestigung des Schlauches erfolgt beiderseits mit Gummistopfen. Man benötigt 4 ml Plasma; die Dialyse ist nach 4 Std beendet. Die Außenflüssigkeit wird den Erfordernissen entsprechend gepuffert und mit einem geeigneten Gemisch von O_2+CO_2 bei 30—35 mm Hg-Unterdruck durchperlt, was gleichzeitig gute Durchmischung bewirkt. In den Dialysierschlauch gibt man ein Glasstäbchen und bringt die Apparatur zu mehreren Aggregaten in einen Schüttelthermostaten. Einzelheiten der Anfertigung sind in einer Reihe von Abbildungen und genauen Vorschriften angegeben und mögen im Original eingesehen werden. Über die dialysierbare Calciumfraktion werden im wesentlichen ältere Befunde bestätigt. Die Fraktion ist eine Funktion von pH,

[1] J. Lab. clin. Med. **49**, 300—303 (1957). Cornell Univ. Med. Coll., New York.
[2] J. Lab. clin. Med. **49**, 292—299 (1957).

Gesamteiweiß- und Gesamtcalciumkonzentration im Plasma. Die Calciumbestimmung wird mit der indirekten flammenphotometrischen Methode von P. P. Poulos und R. F. Pitts[1] durchgeführt. E. Müller, Würzburg

Zur photometrischen Bestimmung des Gesamt-Phosphors im Blut als Molybdänblau mit dem Pulfrich-Photometer gibt H. Siering[2] eine modifizierte Arbeitsvorschrift für den Gebrauch in klinischen Laboratorien an. Ihr wesentliches Kennzeichen ist die nasse Veraschung der mit 2 ml Wasser hämolysierten Blutprobe von 0,1 ml mit 0,5 ml konzentrierter Salpetersäure und 1 ml 70%iger Perchlorsäure. Sie ist bei mäßiger Hitze (Sandbad) nach etwa 30—60 min beendet. Nach Abkühlung gibt man 14,1 ml 0,4%ige Ammoniummolybdatlösung, danach 0,6 ml Aminonaphtholsulfonsäure-Reagens hinzu, läßt $^1/_2$ Std im Dunkeln stehen, füllt dann auf 30 ml auf und photometriert bei 1 cm Schichtdicke unter Verwendung des Filters S 72 gegen eine gleichartig behandelte Blindprobe. Die maximale Farbintensität ist nach 30 min erreicht und bleibt mindestens 8 Std unverändert. — Durch Multiplikation der Extinktionsmeßwerte mit 223 erhält man den Gesamt-Phosphorgehalt des Blutes in Milligramm-Prozent. Das Beersche Gesetz ist bis 100 mg-% erfüllt. Verf. gibt für das Verfahren einen mittleren Fehler von $\pm$ 2,3% an.
H. Hartkamp

Eine Methode zur Bestimmung von Phosphorsäure und Phosphatase mit N-Phenyl-p-phenylendiamin als Reduktionsmittel für die Phosphormolybdänsäure geben R. L. Dryer, A. R. Tammes und J. I. Routh[3] an. Mit dem neuen Reduktionsmittel wird die maximale Extinktion bereits nach 10 min erreicht und bleibt mindestens 1,5 Std konstant. Die Extinktion ist mehrfach größer als mit irgendeinem anderen Reagens; sie bleibt für einen Reagensansatz 10 Tage unverändert. Es werden 3 verschiedene Spezialmethoden mitgeteilt: 1. Für organischen Phosphor (Phosphatide), 2. für anorganischen Serumphosphor und 3. für alkalische Serumphosphatase. — *Ausführung.* 1. Eine Probe, die 0,2—10 μg Phosphor enthält, bringt man in einen 30 ml-Kjeldahl-Kolben und gibt 1 ml 5 n Schwefelsäure und eine kleine Glaskugel zu. Man verascht wie üblich und setzt zum Schluß 1 Tropfen 30%iges Wasserstoffperoxyd zu. Nach Abklingen der heftigen Reaktion fügt man zur Zerstörung nicht umgesetzten Peroxyds 2 Tropfen 5%ige Harnstofflösung zu. Die klare, abgekühlte Lösung wird mit etwa 2 ml Wasser verdünnt und nochmal 3 min zur Hydrolyse von Polyphosphaten gekocht. Man überführt mit möglichst wenig Wasser in ein 5 ml-Meßkölbchen. Dazu eignet sich der abgebildete Trichter (Abb. 1) besonders gut. Er ermöglicht das Entweichen von Luft aus dem engen Kolbenhals und hält mit der Nase die Glaskugel zurück. Man setzt 1 ml 0,025 m Molybdatlösung (s.u.) zu, mischt mit 2 ml N-Phenyl-p-phenylendiaminhydrochlorid-(p-Semidinhydrochlorid)-Reagens (s. u.) und füllt mit Wasser zur Marke auf. Nach 10 min mißt man die Extinktion bei 345 oder 770 mμ. Ansätze mit 1 ml der verdünnten Phosphorstandardlösung (s. u.) laufen mit. — 2. Man mischt 0,2 ml Serum mit 1,8 ml 10%iger Trichloressigsäure in einem Zentrifugenglas und zentrifugiert nach 5 min. 1 ml Überstand gibt man in die Photometerküvette, setzt 0,2 ml 0,008 m Molybdatlösung (s. u.) und nach Mischen noch 2 ml Semidinreagens (s. u.) zu. Nach 10 min mißt man die Extinktion bei 350 oder 770 mμ. Entsprechende

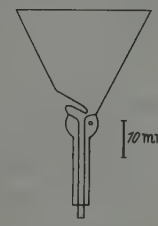


Abb. 1. Einfülltrichter nach Dryer u. Mitarb.

[1] J. Lab. clin. Med. **49**, 300 (1957); vgl. das vorstehende Referat.
[2] Röntgen- u. Laborat.-Praxis **10**, 128—130 (1957). Univ. Jena.
[3] J. biol. Chemistry **225**, 177—183 (1957). Univ. Iowa City, Iowa (USA).

Ansätze, bei denen das Serum durch verdünnte Phosphorstandardlösung (s. u.) ersetzt wird, laufen mit. — 3. 1,8 ml einer Glycerophosphatsubstratlösung (s. u.) gibt man in ein Zentrifugenglas und inkubiert 10 min bei 37° C. Nach Zusatz von 0,2 ml Serum inkubiert man nochmal 1 Std. Danach gibt man 0,5 ml 30%ige Trichloressigsäure zu, mischt und zentrifugiert. Eine Kontrollbestimmung wird in der Reihenfolge Substrat, Trichloressigsäure, Serum angesetzt. Zu 1 ml jedes Zentrifugatüberstandes gibt man 0,2 ml 0,008 m Molybdatlösung und verfährt weiter wie unter 2. — 0,025 m *Ammoniummolybdatlösung* wird in Polyäthylenflaschen aufbewahrt. Zur vollständigen Lösung setzt man nicht mehr als 0,1 ml konz. Schwefelsäure/100 ml zu. Eine 0,008 m Lösung für 2 und 3 stellt man daraus durch 1:3 Verdünnung her und füllt auch in Polyäthylenflaschen. — p-*Semidinhydrochloridlösung*. 50 mg des gepulverten Salzes (Eastman Kodak Company, Rochester, New York) gibt man in einen 100 ml-Meßkolben, feuchtet mit wenigen Tropfen 95%igem Äthanol an und löst unter Schütteln in 1%iger Natriumhydrogensulfitlösung, füllt damit auf und filtriert. Die Lösung bleibt 10 Tage farblos. Auch wenn sie sich verfärbt, ist sie noch brauchbar, es steigt dann nur der Blindwert. — *Phosphatstandardlösung*. 438,1 mg KH_2PO_4 in 100 ml 5 n Schwefelsäure. Man verwendet eine Verdünnung von 1:100, die im ml 10 μg Phosphor enthält. *Glycerophosphatsubstrat*, p_H 9,3. Man löst 0,5 g Natrium-β-glycerophosphat und 0,424 g Veronalnatrium in 50 ml warmem Wasser, kühlt, gibt in einen 100 ml-Meßkolben und füllt mit Wasser zur Marke auf. Der p_H-Wert darf nur um $\pm$ 0,05 Einheiten schwanken.

E. Müller, Würzburg

Zur Bestimmung kleiner Mengen Schwefel-35 in Gewebeproben wird von C.-H. Dohlman[1] eine einfache Methode angegeben, die sich gut für Reihenanalysen eignet. — *Arbeitsweise*. Je nach der zu erwartenden Radioaktivität werden bis zu 60 mg der trockenen Gewebeprobe in einem dickwandigen 10 ml-Reagensglas mit 0,2 ml 2%iger Schwefelsäure und 2 ml rauchender Salpetersäure versetzt und 30 min unter Rückfluß auf 80° C erhitzt (Siliconölbad). Anschließend wird bei 110—120° C zur Trockne verdampft. Man kühlt ab, läßt 2 ml 30%ige H_2O_2-Lösung zutropfen, erhitzt 30 min unter Rückfluß auf 90° C und verdampft dann bei 100 bis 110° C erneut zur Trockne. Der Rückstand wird in 2,0 ml dest. Wasser gelöst und je 0,5 ml der erhaltenen Lösung werden auf 3 Bleibleche aufgetragen (falls die zu erwartende Radioaktivität gering ist, wird nur ein Blech verwendet). Man läßt das Lösungsmittel bei 40° C verdampfen und erhält auf den Blechen eine dünne, gleichmäßige Bleisulfatschicht, deren Radioaktivität mit Hilfe eines Geigerzählers in üblicher Weise bestimmt wird. Der Fehler der Methode ist mit $\pm$ 2,1% angegeben.

K. Machner

Chloridbestimmung in pflanzlichen und tierischen Substanzen. K. Scharrer und J. Jung[2] ermitteln den *Chloridgehalt argentometrisch mit potentiometrischer Endpunktsanzeige*. Die übrigen Halogene sind nur in Spuren vorhanden, stören somit nicht. Bei sehr guter Reproduzierbarkeit der Einzelanalysen können die vorliegenden Chloridmengen auf besser als 0,1 mg erfaßt werden. — *Ausführung*. Man schüttelt 0,5—3,0 g feingemahlene, lufttrockene Substanz in einer 200 ml dest. Wasser enthaltenden Stohmann-Flasche $^1/_2$ Std, fügt anschließend zur Klärung 10 ml einer wäßrigen Lösung, die 50 g Phosphorwolframsäure und 500 ml konz. Salpetersäure im Liter enthält, hinzu, füllt auf 250 ml auf, schüttelt gut um und filtriert. 100 oder 200 ml Filtrat werden mit 0,01 oder 0,1 n $AgNO_3$-Lösung bis zum

[1] Ark. Kemi **11**, 255—257 (1957). Karolinska Inst., Stockholm und Univ. Hospital, Lund (Schweden).

[2] Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **12**, 13—19 (1957). Justus-Liebig-Hochschule (Univ.) Gießen.

experimentell ermittelten Äquivalenzpunktspotential titriert. Als Indicatorelektrode dient eine Silberelektrode, als Bezugselektrode eine Kalomelelektrode; gerührt wird magnetisch; als Meßgerät wird ein p_H-Meter verwendet. NELLY KONOPIK

Über die Bestimmung von eiweißgebundenem Jod im Serum nach alkalischer Veraschung berichtet J. D. ACLAND[1]. Verf. hat sehr eingehende Untersuchungen über frühere Methoden angestellt und Fehlerquellen eliminiert. Bei der entwickelten Methode handelt es sich um eine Modifikation des von A. GROSSMANN und G. F. GROSSMANN angegebenen Verfahrens, das auf der durch arsenige Säure bewirkten und durch Jod katalysierten Reaktion $Ce^{4+} \rightarrow Ce^{3+}$ beruht[2]. — *Ausführung.* In ein 16 × 125 mm Pyrex-Glas gibt man 1 ml Serum, 7 ml Wasser, 1 ml 10%ige (Gew./Vol.) $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$-Lösung und 1 ml 0,5 n Natronlauge, mischt gut mit einem Glasstab und zentrifugiert nach 3 Std bei 2000 U/min 10 min lang. Der Niederschlag wird 3 mal mit je 10 ml Wasser durch Suspendieren und Zentrifugieren gewaschen, dann in 1 ml 4 n Natriumcarbonatlösung suspendiert und der Glasstab mit 0,5—1 ml Wasser abgespült. Man trocknet über Nacht bei 95—98° C im elektrischen Ofen und verascht $3^1/_2$ Std bei 600° C im Muffelofen, dessen Tür etwas offen bleibt. (Nach dreimaligen Gebrauch werden die Röhrchen verworfen). Nach dem Abkühlen setzt man 1 ml 2 n Salzsäure zu, mischt gut mit einem Glasstab, versetzt mit 6 ml Wasser und läßt $^1/_2$ Std stehen, wobei man dreimal umrührt. Die Lösung gibt man in ein konisches Zentrifugenglas und zentrifugiert 20 min bei 3000 U/min von Kohlepartikeln ab. Doppelansätze von 3 ml der überstehenden Lösung in dünnwandigen 16 × 150 mm Pyrex-Gläsern versetzt man mit 1 ml Wasser, 0,5 ml arseniger Säure (siehe unten) und 1 ml 3,5 n Schwefelsäure und mischt durch Klopfen. Die Gläser kommen dann 10 min in ein Wasserbad von 37 ± 0,1° C. Man gibt 0,5 ml Cer(IV)-ammoniumsulfatlösung (siehe unten) zu und mischt schnell. Genau 12,5 min nach diesem Zusatz mißt man die Extinktion bei 415 mμ in einer 1 cm-Küvette, wobei die Küvette 45 sec vorher gefüllt wurde. Der aus einer Eichkurve entnommene Wert mit 700/3 multipliziert ergibt μg Jod/100 ml Serum. Für die Blindwerte nimmt man statt Serum 1 ml Wasser. Zur Aufstellung der Eichkurve benutzt man Blindwertansätze, bei denen man zu den 3 ml nach Veraschung statt Wasser in Doppelansätzen 1 ml KJ-Standardlösung mit 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 und 0,10 μg Jod/ml zusetzt und sonst wie oben verfährt. Die Extinktion wird dann gegen μg Jod auf halblogarithmischem Papier aufgetragen. Bei Erneuerung irgend einer der Lösungen muß die Kurve neu angefertigt werden. — *Arsenige Säure.* Man löst 3,8 g As_2O_3 in 50 ml warmer 1 n Natronlauge, versetzt nach Abkühlen mit 50 ml Wasser und füllt mit 3,5 n Schwefelsäure auf 500 ml auf. — *Cer(IV)-ammoniumsulfatlösung:* 39 g des Salzes in 1 l 3,5 n Schwefelsäure.

E. MÜLLER, Würzburg

Zur quantitativen Bestimmung von L(+)-Milchsäure mit Milchsäuredehydrogenase empfehlen H.-D. HORN und F. H. BRUNS[3] die Dehydrierung der L(+)-Milchsäure in einem Glycin-NaOH-Puffer bei p_H 10,5 und einem großen Überschuß von Semicarbazid. — *Arbeitsweise.* Zum Fermentansatz gibt man in eine 10 mm-Küvette nacheinander 2,05 ml 0,2 m Glycin-NaOH-Pufferlösung (p_H 10,5) (100 ml der Pufferlösung enthalten 5,0 g Semicarbazidhydrochlorid) und 0,20 ml Lithiumlactat-Stammlösung, die 0,0025 Millimol L(+)-Milchsäure/ml enthält. Man mischt gut durch (Glasstab), mißt die Extinktion der erhaltenen Lösung bei 366 mμ, gibt anschließend 0,05ml Milchsäuredehydrogenase zu (kristallin aus Skeletmuskel, etwa 5 mg als Suspension in einer 0,6 gesättigten Ammoniumsulfatlösung) und

[1] Biochemic. J. **66**, 177—188 (1957). Univ. u. Royal Infirmary. Sheffield (Engl.).

[2] ACLAND, J. D.: Biochemic. J. **62**, 30 P (1956); vgl. diese Z. **153**, 452 (1956).

[3] Biochim. biophysica Acta (Amsterd.) **21**, 378—380 (1956). Med. Akad. Düsseldorf.

rührt nochmals vorsichtig um. Man läßt das Reaktionsgemisch 100—120 min bei 20—25° C stehen (Temperaturen über 30° C führen zu rascher Zerstörung der Milchsäuredehydrogenase) und bestimmt erneut die Extinktion bei der genannten Wellenlänge gegen einen Reagentienleerwert, der an Stelle der L(+)-Milchsäure bidest. Wasser enthält. Um eine vollständige Umsetzung zu garantieren, wird eine zweimalige Ablesung im Abstand von 10—15 min empfohlen. Die p_H-Werte sollen vor und nach der Reaktionszeit kontrolliert werden. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Der Milchsäuregehalt kann auch rechnerisch ermittelt werden: Milchsäure (mg/ml Testlösung) $= \Delta E_{366\,m\mu} \cdot 90/0{,}0034$. — Zur *Bestimmung von L(+)-Milchsäure im Blut und Serum von Menschen* wird das Blut der ungestauten Vene entnommen und sofort im Verhältnis 1:1 mit 7%iger Perchlorsäure enteiweißt. Anschließend wird 10 min scharf zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abfiltriert. 0,4 ml des Filtrats werden mit 0,25 ml 1 n Natronlauge, 1,6 ml der Glycin-NaOH-Pufferlösung und 0,2 ml Diphosphopyridinnucleotid (Reinheitsgrad 75%, 20 mg in 1 ml bidest. Wasser entsprechend $2{,}24 \cdot 10^{-2}$ Millimol/ml) versetzt und wie oben beschrieben weiterbehandelt. Der Leerwert enthält an Stelle des Filtrats 0,4 ml 3,5%ige Perchlorsäure. Die angegebene Methode ist einfach und genau und unabhängig von der anwesenden Brenztraubensäurekonzentration.

K. Machner

H. J. Hohorst[1] gibt ebenfalls eine *Methode zur enzymatischen Bestimmung von L(+)-Milchsäure* an[2], die auf der Umwandlung von L(+)-Milchsäure durch Milchsäuredehydrogenase (MDH) in Brenztraubensäure beruht. Die Auswertung erfolgt über das an der Reaktion beteiligte DPN (Diphosphopyridinnucleotid) durch den optischen Test von Warburg. Nach eingehenden Untersuchungen über Spezifität, Gleichgewichte und Kinetik stellt sich heraus, daß eine durch Sauerstoff bedingte Störreaktion auftreten kann. Um sie auszuschalten, arbeitet man entweder im Vakuum, was Verf. auch aus wirtschaftlichen Gründen empfiehlt, oder mit großen Enzymmengen. — *Ausführung. Im Vakuum.* In ein Thunberg-Röhrchen, das bei 3 ml markiert ist, und einen (nicht unbedingt erforderlichen) Seitenarm trägt, gibt man bis zu 0,5 ml Probelösung, die $0{,}5—5 \cdot 10^{-7}$ Mole Milchsäure enthält. Es werden 0,1 ml einer Lösung von 80 mg DPN-75 (Boehringer Nr. 15128) auf 2 ml mit Wasser (im Eisschrank 2—3 Tage haltbar) zugesetzt, und dann füllt man mit folgender Lösung auf 3 ml auf: 7,5 g Glykokoll nach Sörensen, 2,2 g Semicarbazidhydrochlorid p.a., 0,2 g Dinatriumäthylendiamintetraacetat (Triplex III, Merck Nr. 8418) werden mit 30 ml 2 n Natronlauge in Wasser auf 100 ml gelöst, (p_H 9,5). Für jede Testreihe wird ein Reagentienblindwert angesetzt. Bei gefärbten Lösungen (nicht nötig bei enteiweißtem Blut oder Serum) wird ein Substratblindwert ohne Enzym angesetzt. Die Anfangsextinktion wird entweder im Meßröhrchen oder bei hohen Ansprüchen an Genauigkeit in einer 1 cm-Küvette bei 25° C und 366 mμ bzw. 340 mμ gemessen (im letzten Fall nach Überführen in die Meßröhrchen). Die Reaktion wird durch Einmischen von 0,02 ml MDH-Lösung (20 μg Protein, 400 E) [MDH aus Kaninchenmuskel mit 1 mg Protein — mindestens 20000 E/mg Protein — in 1 ml 2 m Ammoniumsulfat, mit Ammoniak auf p_H 6,5 eingestellt, entsprechend einer $^1/_5$ Verdünnung der MDH I Boehringer Nr. 15145, im Eisschrank unbegrenzt haltbar] gestartet. Die Röhrchen werden nach Abkühlen in Eiswasser 3 min an der Wasserstrahlpumpe unter Klopfen evakuiert (12 bis 15 mm Hg). „Kochen" muß vermieden werden. Die evakuierten Röhrchen verbleiben 4 Std bei 37° C, anschließend mißt man die Extinktion bei 25° C. Der Test kann bis zu 24 Std im Vakuum verbleiben. Die Zunahme der Extinktion

[1] Biochem. Z. **328**, 509—521 (1957). Univ. Marburg/Lahn.

[2] Vgl. das vorstehende Referat.

bei 366 mμ, vermindert um die Extinktionsänderung des Blindwertes, multipliziert mit $9.15 \cdot 10^{-7}$ (82,5) ergibt den Gehalt an L(+)-Milchsäure in Mol (μg) in der Bestimmung. Die Faktoren für Messung bei 340 mμ sind $4.8 \cdot 10^{-7}$ (43,3). Der Umrechnung liegen die Extinktionskoeffizienten $\Delta E_{366} = 3.30 \cdot 10^6$ cm²/Mol und $\Delta E_{340} = 6.29 \cdot 10^6$ cm²/Mol, beide für 25° C, zugrunde. — *Ohne Vakuum.* Bis zu 0,2 ml Probelösung, die $0{,}25—2{,}5 \cdot 10^{-7}$ Mol L(+)-Lactat enthält, werden in einer 1 cm-Küvette mit 0,06 ml obiger DPN-Lösung versetzt und mit obigem Semicarbazidpuffer auf 1,65 ml aufgefüllt. Die Anfangsextinktion wird bei 366 mμ und 25° C gemessen; nach Erwärmen auf 37° C mischt man 0,02 ml MDH-Lösung ein [ungefähr 5 mg Protein/ml in 0,4 ml (? Ref.) gesättigter Ammoniumsulfatlösung mit mindestens 20000 E/mg Protein, MDH I Boehringer Nr. 15145]. Ein gleichangesetzter Reagentienblindwert läuft mit. Nach 30 min bei 37° C wird auf 25° C abgekühlt und erneut photometriert. Die Berechnung erfolgt wie oben, die Faktoren sind für 366 mμ: $5{,}06 \cdot 10^{-5}$ (45,6) und für 340 mμ: $2{,}66 \cdot 10^{-7}$ (24,0). — Enteiweißung. 5 ml Blut oder Serum werden mit 2,5 ml 5%iger Perchlorsäure gemischt und 5 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Ein aliquoter Teil des Überstandes wird mit 2 n KOH-Lösung neutralisiert und nach Kühlung vom Kaliumperchlorat durch Zentrifugieren getrennt. E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung von Oxalsäure im Harn geben E. R. Hausman, J. S. McAnally und G. T. Lewis[1] an. Sie beruht darauf, daß Oxalsäure mit Indol einen Farbkomplex bildet, der sich photometrisch auswerten läßt[2]. — *Ausführung.* Der 24 Std-Harn wird in 10—12 ml Eisessig gesammelt. Er ist 48 Std haltbar und soll nicht gekühlt werden. Nach Verdünnen auf 2 l stellt man mit konz. Ammoniak auf p_H 4,9—5,1 ein und versetzt 150 ml mit 1 g Lloyds Reagens. Während 5 min schüttelt man ab und zu, läßt 5 min stehen und filtriert durch Whatman-Papier Nr. 1, wobei man die ersten 10 ml Filtrat verwirft. In 2 konische Zentrifugengläser pipettiert man je 40 ml Filtrat (Doppelansatz), setzt 0,2 ml gesättigte Calciumchloridlösung hinzu und läßt über Nacht bei 4° C stehen. Die Gläser werden bei 2—5° C 30 min mit 2000 U/min zentrifugiert. Nach Dekantieren von etwa 30 ml bringt man den aufgewirbelten Niederschlag mit 3 ml Eiswasser quantitativ in graduierte, konische 12 ml-Zentrifugengläser, zentrifugiert wieder, dekantiert den Überstand und läßt die umgekehrten Gläser einige Sekunden auslaufen. Der Niederschlag wird 2 mal mit je 2 ml 0,5 vol-%igem Ammoniak (5 ml konz. Ammoniak + 995 ml Wasser) gewaschen. Die letzten nach Dekantieren an der Wandung noch anhaftenden Flüssigkeitsreste entfernt man mit Filtrierpapier. Zum Niederschlag gibt man 1 ml 1 n Schwefelsäure, setzt die Gläser einige Sekunden in ein kochendes Wasserbad und bringt mit einem Glasstab alles in Lösung. Nach Abkühlen spült man den Stab mit weniger als 1 ml 1 n Schwefelsäure ab, bringt durch Zentrifugieren alle Flüssigkeit nach unten, füllt mit 1 n Schwefelsäure auf 2 ml auf (diese Marke muß mitunter nachgeeicht werden), verschließt, schüttelt und zentrifugiert. (Mitunter bilden sich in 1 n Schwefelsäure nicht lösliche geringe Niederschläge.) In Colorimetergläsern (Klett-Summerson) mischt man 1,5 ml Überstand mit 0,5 ml einer Lösung von 0,40 g Indol in 100 ml 95%igem Äthanol, unterschichtet mit 2 ml konz. Schwefelsäure, mischt mit einem Hakenglasstab, erwärmt 45 min in einem Wasserbad auf 80—90° C, kühlt unter der Wasserleitung, füllt mit Wasser auf 5 ml auf, mischt durch Rühren und läßt 45 min bei Raumtemperatur stehen. Die Farbe ist einige Stunden beständig; die Standardansätze sollen aber nach gleichem Zeitintervall wie die Proben abgelesen werden. Man benutzt das Grünfilter Nr. 54

[1] Clin. Chemistry **2**, 439—444 (1956). Univ. of Miami, Coral Gables, Fla. (USA).

[2] Bergerman, J., und J. S. Elliot: Analyt. Chemistry **27**, 1014 (1955); vgl. diese Z. **152**, 378 (1956); **155**, 80 (1957).

(540 mμ) (die Maximalabsorption liegt bei 525—530 mμ). Standardlösungen laufen in dreifachen Ansätzen mit, sie bestehen aus 1,0 ml Gebrauchslösung (siehe unten), 0,5 ml 1 n Schwefelsäure und 0,5 ml Indollösung. Den Blindwert ergibt eine Lösung von 1,5 ml 1 n Schwefelsäure und 0,5 ml Indollösung. Standardlösung: Man löst 1,4870 g Natriumoxalat (äquivalent 1,0000 g Oxalsäure) in Wasser zu 1 l Gebrauchslösung: 50 ml Standardlösung + 50 ml 2 n Schwefelsäure ≙ 0,5 mg Oxalsäure/1,0 ml 1 n Schwefelsäure. Die Werte bei 3 Menschen schwanken zwischen 12 und 49 mg/Tag. Zugesetzte Oxalsäure findet man zu 95—110% wieder.

E. Müller, Würzburg

Papierchromatographische Identifizierung und quantitative Bestimmung von Ketosäuren. Ketosäuren und andere Carbonylverbindungen in *biologischem Material* werden von E. Kun und M. Garcia-Hernandez[1] quantitativ bestimmt. Die Verbindungen werden in ihre 2,4-Dinitrophenylhydrazone (DNPH) übergeführt und papierchromatographisch getrennt und isoliert. Die einzelnen Stoffe werden nochmals chromatographiert und katalytisch zu den entsprechenden Aminen reduziert. — *Ausführung.* Zur Darstellung der DNPH wird das biologische Material zunächst durch Zusatz von 0,05—0,1 seines Volumens an eiskalter 60%iger Perclorsäure enteiweißt. Das Gemisch bleibt im Eisbad und wird nach 10 min in einen Überschuß (50—200 ml) von frisch hergestellter 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung (1 g/1 l 2 n Salzsäure) filtriert (Whatman Nr. 1). Das Reaktionsgemisch bleibt 2 Std bei Zimmertemperatur und dann über Nacht bei 4° C stehen. Mit Ausnahme der β-Mercaptobrenztraubensäure werden alle untersuchten Ketosäuren unter diesen Bedingungen quantitativ in die DNPH übergeführt. Durch die Perchlorsäure wird nur Acetessigsäure zum Teil zersetzt. Die Zersetzung von Diketobernsteinsäure und Oxalglykolsäure, die bereits in neutraler Lösung durch 2-wertige Ionen erfolgt, kann durch Zusatz von 0,02 m Äthylendiamintetraacetat vermindert werden. — Die DNPH werden im Scheidetrichter 2 mal mit 10 ml Äthylacetat ausgeschüttelt, der Extrakt wird zur Trocknung durch wasserfreies Natriumsulfat filtriert und das Lösungsmittel im Stickstoffstrom bei 30—40° C abgedampft. Der Rückstand wird in wenig Äthylacetat aufgenommen und papierchromatographisch (absteigend) in Ketonsäuren und andere Carbonylverbindungen getrennt. Man verwendet Whatman-Papier Nr. 1, das mit 0,1 m Kaliumphosphatpuffer (p_H 7,3) getränkt und bei Zimmertemperatur getrocknet worden ist. Als Lösungsmittel dient ein Gemisch aus Petroläther und 95%igem Äthanol (1 : 4). Die getrennten Verbindungsgruppen werden mit Äthylacetat aus dem Papier extrahiert. Liegen nur Ketosäuren vor, genügt die Reinigung über die Natriumsalze. Man extrahiert dazu den Äthylacetatextrakt mit 20 ml 10%iger Na_2CO_3-Lösung, gibt diesen neuen Extrakt sofort in das Eisbad, säuert mit Salzsäure auf p_H 1 an, extrahiert zweimal mit Äthylacetat, trocknet mit Na_2SO_4 und verdampft wie oben angegeben. Die DNPH der Ketosäuren werden dann voneinander chromatographisch auf dem wie oben getränkten Whatman-Papier Nr. 1 mit 83%igem Äthanol als Lösungsmittel getrennt. Die einzelnen Komponenten werden wieder extrahiert und ihre Absorptionen im Phosphatpuffer bei 365—370 mμ gemessen. 78—90% der vorhandenen Ketosäuren werden nach dieser Methode gefunden. In Zweifelsfällen erfolgt Reduktion zur Aminosäure. Der Extrakt aus dem Chromatogramm wird zur Trockne eingedampft, in 3—5 ml Eisessig aufgenommen und mit 1—2 mg Platinoxyd als Katalysator in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Die Aminosäuren werden papierchromatographisch identifiziert. Die DNPH von Formaldehyd, Acetaldehyd und Aceton werden zur Identifizierung ebenfalls zu den Aminen reduziert.

Eva Neuhaus

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **23**, 181—186 (1957). Univ. Madison, Wis.

Zur Bestimmung von Brenztraubensäure und α-Ketoglutarsäure in Blut, Harn und Cerebrospinalflüssigkeit isoliert B. McArdle[1] die Ketosäuren als 2,4-Dinitrophenylhydrazone und trennt sie papierchromatographisch. — *Arbeitsweise.* Zunächst wird das Eiweiß aus den zu untersuchenden Proben mit 5%iger Metaphosphorsäure gefällt und abzentrifugiert und; zwar mischt man 5—7 ml Blut mit 20 ml, 3 ml Cerebrospinalflüssigkeit mit 14 ml und 3 ml Harn (D 1,02 oder darüber) mit 13 ml Metaphosphorsäure. Bei Dichten unter 1,02 muß mehr Harn und weniger und konzentriertere Metaphosphorsäure verwendet werden. Zu 16 ml der eiweißfreien Probe werden 2 ml einer 0,2%igen Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2 n Salzsäure gegeben. Das Gemisch wird 20 min bei 38° C gehalten, dann im Scheidetrichter mit 5 ml Essigester und 5 ml Äthanol 45 sec geschüttelt. Die wäßrige Phase wird nochmals zunächst mit 5 ml, dann mit 1 ml Essigester extrahiert. Mit Blutfiltraten entstehen bei der Extraktion leicht Emulsionen, die zur Trennung der Schichten zentrifugiert werden müssen. Die vereinigten Extrakte werden mit 20 ml Wasser gewaschen, das mit 1—2 Tropfen 1 n Salzsäure schwach angesäuert ist. Zu der Essigesterlösung gibt man 1,5 ml 2 n Ammoniak und läßt 2,5 min Sauerstoff oder Luft hindurchperlen. Je nach Ketosäurengehalt werden 0,1—0,6 ml der wäßrigen Schicht auf Whatman-Papier Nr. 3 MM gebracht und aufsteigend in n-Butanol-Äthanol-0,5 n Ammoniak (7 : 1 : 2) chromatographiert[2]. Aus dem fertigen Chromatogramm werden die Hydrazonflecke der Ketosäuren ausgeschnitten und in 5 ml einer Mischung aus gleichen Teilen 2,5 n Natronlauge und 10%iger Sodalösung gelegt. Der Extrakt wird durch eine Glasfritte mit aufgelegtem Filter (Whatman-Papier Nr. 42) filtriert und 15 min nach dem Alkalizusatz zum Papier colorimetrisch in einer 2 cm-Küvette mit einem „Ilford Spectrum Violet 601"-Filter bestimmt. Zur Aufstellung der Eichkurve werden bekannte Mengen der entsprechenden Ketosäurehydrazone aus dem Papier eluiert, ohne sie jedoch vorher zu chromatographieren. — Eine quantitative Bestimmung von Acetessigsäure ist nicht versucht worden, da nur ein Teil der Säure als Hydrazonfleck erscheint. Die Bestimmung der Brenztraubensäure wird durch geringe Mengen Acetessigsäure nicht gestört, liegen größere Mengen vor, muß die Acetessigsäure vorher zerstört werden. Dazu kann sie in das schnell laufende Acetonhydrazon übergeführt werden, indem man den Fleck vor der Chromatographie 20 min auf 60° C erhitzt, dabei werden 90% des Acetessigesterhydrazons zerstört, außerdem gehen ~ 5% Brenztraubensäurehydrazon verloren. α-Ketoglutarsäure wird nicht angegriffen. Oder man fügt 3 min vor der ersten Essigesterextraktion 1 ml einer 2%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in 1,3 n Salzsäure hinzu. Hierbei werden 3 mg dem Blutfiltrat zugesetzte Acetessigsäure vollständig entfernt, es gehen aber auch 17% Brenztraubensäure- und 9% α-Ketoglutarsäurehydrazon verloren. Auch wenn keine Acetessigsäure vorliegt, gehen bei dieser Methode gewisse konstante Mengen an Brenztraubensäurehydrazon und an α-Ketoglutarsäurehydrazon verloren. Eva Neuhaus

Aminosäuren. Ein neues Lösungsmittel, das Phenol bei der *papierchromatographischen Aminosäurebestimmung* ersetzt, gibt M. Wolfe[3] an. Es besteht aus n-Butanol/Methyläthylketon/Wasser/17 n Ammoniak (5 : 3 : 1 : 1). Bei der zweidimensionalen Chromatographie ist die Trennung schärfer als mit Phenol, so daß auch Leucin, Isoleucin, Lysin, Arginin und Histidin gut getrennt werden. — *Aus-*

[1] Biochemic. J. **66**, 144—148 (1957). Guy's Hosp. Med. School, London (England).

[2] El Hawary, M. F. S., und R. H. S. Thompson: Biochemic. J. **53**, 340 (1953); vgl. diese Z. **143**, 317 (1954).

[3] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **23**, 186—191 (1957). Botany Dep. Univ. College, London (England).

führung. Man löst das Aminosäuregemisch in 3%igem Wasserstoffperoxyd und läßt 30 min bei 30° C stehen, um Cystein und Cystin zu Cysteinsäure und Methionin zu seinem Sulfoxyd und Sulfon zu oxydieren. Auf Whatman-Papier 3 MM von 50 cm² trägt man 10 cm von beiden Rändern entfernt 50—100 μl der Aminosäurelösung auf, die 2—5 μg Aminostickstoff jeder Aminosäure enthalten soll, und arbeitet im absteigenden Verfahren. Zuerst läßt man mit obigem Lösungsmittel bei 20—21° C 34 Std laufen, wobei das Gefäß Schalen mit dem gleichen Lösungsmittel enthält, und trocknet 3 Std im Luftstrom von 40° C. In der zweiten Richtung läßt man 20 Std mit der organischen Phase von n-Butanol/Essigsäure/Wasser (4 : 1 : 5) laufen und trocknet 5 Std in gleicher Weise. Die photometrische Auswertung der Aminosäuren erfolgt nach L. Fowden[1], E. W. Yemm und E. C. Cocking[2] und für Prolin nach F. P. Chinard[3]. Für die im ersten Lösungsmittel am schnellsten laufende Aminosäure Phenylalanin beträgt der R_f-Wert nur 0,25. Verf. setzt diesen Wert gleich 1,00 und setzt alle anderen Werte ins Verhältnis hierzu, wofür er dann die Bezeichnung R_Φ einführt. Die R_Φ-Werte für 25 Aminosäuren sind in einer Tabelle zusammengestellt. Wenn man Papierstreifen erst mit dem zweiten Lösungsmittel allein laufen läßt, trocknet, aufträgt und mit der ersten Lösung entwickelt, verändern sich die R_Φ-Werte wenig, und man kann dann eindimensional Prolin, Tyrosin, Valin, Threonin und Isoleucin trennen. Der Fehler der Methode beträgt 1—4%. E. Müller, Würzburg

Die papierchromatographische Bestimmung freier Aminosäuren in normalen und eisenarmen Hibiscus esculentus L.-Pflanzen führte S. D. Démétriadès[4] durch. Er bestätigte damit die Beobachtung, daß in eisenarmen Pflanzen mehr freie Aminosäuren vorhanden sind, während die Menge der Proteine geringer ist als in normalen Pflanzen. Verf. stellt außerdem fest, daß die Unterschiede nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ sind. Eisenarme Pflanzen enthalten *Phenylalanin, Serin* und *Glycin*, die in normalen nicht nachweisbar sind. — *Ausführung.* 3—4 g frisches Material von 35 Tage alten Pflanzen werden in 80%igem Alkohol gut zerkleinert. Man zentrifugiert, dekantiert und konzentriert den Extrakt durch Verdampfen bis auf 1 ml; 0,005 ml werden für ein Chromatogramm verwendet. Man chromatographiert zweidimensional auf Whatman-Papier Nr. 1 (25 × 25 cm). Als Lösungsmittel dienen Phenol in der einen und ein Gemisch aus n-Butanol, Essigsäure und Wasser (4 : 1 : 5) in der anderen Richtung. Das Chromatogramm wird durch Besprühen mit einer 0,1%igen acetonischen Ninhydrinlösung entwickelt und mit einem Standardchromatogramm verglichen.

Margot Zimmermann

Über eine verbesserte Methode zur Mikrobestimmung von Tyrosin berichtet J. H. Ottaway[5]. Die Methode beruht auf der Farbreaktion von O. Gerngross, K. Voss und T. Herfeld[6] mit 1-Nitroso-2-naphthol, die bei allen p-alkylierten Phenolen positiv ausfällt. Ein Nachteil des Verfahrens ist die geringe Beständigkeit der erhaltenen Färbung. Nach Feststellung des Verfassers kann aber die Farbe stabilisiert werden, wenn die Lösung frei von Alkoholen ist und wenn sie $FeCl_3$ (oder andere gelbe Verbindungen) sowie etwa 0,25 m NaCl enthält. Tryptophan vermindert die Farbe um ~ 20%, Alkohole, Fe^{++}, Co^{++} und Ni^{++} sowie stark reduzierende Stoffe

[1] Ann. Botany (London) **18**, 417 (1954).

[2] Analyst **80**, 209 (1955); vgl. diese Z. **149**, 318 (1956).

[3] J. biol. Chemistry **199**, 91 (1952); vgl. diese Z. **143**, 455 (1954).

[4] Nature (London) **177**, 95 (1956). Benaki Phytopathol. Inst., Kiphissia-Athen (Griechenland).

[5] Biochemic. J. **66**, 8P—9P (1957). Univ. College, London (England).

[6] Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 435 (1933).

stören. — *Ausführung.* Zu 2 ml Probe (z. B. *Harn*), die 3—100 μg Tyrosin/ml enthält, gibt man 0,1 ml einer 0,3%igen Lösung von 1-Nitroso-2-naphtol in Aceton, erwärmt 5 min im Wasserbad von 60° C, setzt 4 Tropfen konz. Salpetersäure zu und erwärmt noch einmal 1 min im Wasserbad. Nach 5—10 min Abkühlen setzt man 6 ml der stabilisierenden Lösung zu (200 ml 1 m Natriumchlorid mischt man mit 250 ml Aceton und verdünnt auf 1 Liter. Kurz vor Gebrauch versetzt man 100 ml dieser Lösung mit 1 ml 1 m Eisen(III)-chloridlösung). Der Farbkomplex ist 1—2 Std stabil. Man mißt die Extinktion bei 500 mμ. E. Müller, Würzburg

Freies Methionin läßt sich, wie A. Leismann und F. Turba[1] mitteilen, quantitativ neben peptidgebundenem Methionin bestimmen, wenn man es mit Ninhydrin zu β-Methylmercapto-propionaldehyd (I) umsetzt und letzteren nach Abtrennung durch Wasserdampfdestillation und Überführung in das entsprechende 2,4-Dinitrophenylhydrazon (II) spektralphotometrisch bestimmt. Methioninpeptide stören nicht. Bei Anwesenheit von Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin und Phenylalanin, die mit Ninhydrin ebenfalls wasserdampfflüchtige Aldehyde bilden, muß das resultierende Hydrazongemisch zunächst chromatographisch aufgetrennt werden. Die gefundenen Werte liegen bei Mengen von 149—1000 μg Methionin zwischen 92 und 106%. — *Ausführung.* 4—6 ml einer Lösung, die 1—5 mg Methionin enthalten soll, werden in ein 50 ml-Destillationskölbchen gebracht und mit 100 mg Citratpuffer von p_H 4,7 (inniges Gemisch von 17,65 g krist. Natriumcitrat und 8,40 g krist. Citronensäure), 100 mg Ninhydrin und etwas Aluminiumgrieß versetzt. In die Vorlage bringt man 5 ml Dinitrophenylhydrazinlösung (0,2%ig in 2 n Salzsäure). Dann evakuiert man auf 170 Torr, taucht das Reaktionskölbchen in ein siedendes Wasserbad, destilliert zur Sirupkonsistenz etwa 6 min und läßt anschließend noch 60 min bei 20° C stehen. Die Dinitrophenylhydraxone werden 2mal mit je 10 ml und 1mal mit 5 ml Benzol-Heptangemisch (1 : 1) extrahiert, die Lösung wird auf einige ml eingeengt und auf einer Säule von Magnesiumsulfat mit Benzol-Heptan (1 : 1) chromatographiert. Zuerst werden die Hydrazone der übrigen flüchtigen Aldehyde desorbiert, dann folgt II, das mit 30 ml Lösungsmittelgemisch quantitativ herausgespült werden kann. Überschüssiges Dinitrophenylhydrazin bleibt am Startpunkt zurück. Das Eluat von II wird in einem Meßkolben mit Benzol-Heptangemisch auf 50 ml aufgefüllt und die Extinktion bei 390 mμ bestimmt. In analoger Weise stellt man mit bekannten Mengen Methionin eine Eichkurve her. G. Kainz

Über Thermomikromethoden zum Nachweis von Glutaminsäure und ihren optisch isomeren Verbindungen berichten A. Kofler, N. Delande und A. Lacourt[2]. DL-Glutaminsäure kristallisiert aus Wasser oder verdünntem Äthanol als Hydrat (durchsichtige, nadelförmige Kristalle). während die D- und L-Isomeren unter den gleichen Bedingungen wasserfrei kristallisieren. Auf Grund dieses unterschiedlichen Kristallverhaltens lassen sich die Glutaminsäureantipoden einwandfrei unterscheiden. — *Ausführung.* Zur Prüfung auf DL-Glutaminsäure erhitzt man die Probe in einem Tropfen Paraffinöl und beobachtet unter dem Mikroskop, ob Kristallwasser ausgeschieden wird. Verläuft der Test negativ, mischt man zum Nachweis von L- oder D-Glutaminsäure einen Teil der Probe mit etwa der gleichen Menge D- oder L-Glutaminsäure, läßt aus verdünntem Äthylalkohol auskristallisieren und beobachtet, ob es zur Bildung der charakteristischen nadelförmigen Kristalle kommt.

Über die Trennung und quantitative Bestimmung von Phosphoserin, Phosphothreonin, Serin und Threonin berichten J. Schormüller, H.-D. Belitz und

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 273—278 (1957). Staatl. Milchwirtschaftl. Lehr- u. Forschungsanstalt Wangen/Allgäu.

[2] Microchemical J. **1**, 55—57 (1957). Univ. Brüssel (Belgien).

K. Lehmann[1]. Die genannten Verbindungen werden säulenchromatographisch getrennt und im Eluat nach der modifizierten Ninhydrinmethode von S. Moore und W. H. Stein[2] photometrisch bestimmt. — *Arbeitsweise.* Zur Trennung von Phosphoserin und Phosphothreonin wird 1 ml der zu untersuchenden Lösung, deren p_H-Wert $< 1{,}5$ sein muß und die zweckmäßig 100—300 μg der Phosphooxyaminosäuren je Milliliter enthält, auf eine Austauschersäule (Länge 20 cm, ⌀ 1 cm) gebracht, die wie folgt vorbereitet wird. Man füllt die Säule mit 0,1 m Citratpuffer (p_H 1,5). Das in Pufferlösung suspendierte Harz (Dowex 50-X 8, Na-form, 200—400 mesh) wird bis zu einer Höhe von 15 cm einsedimentiert und anschließend mit Pufferlösung bis zur Gleichgewichtseinstellung durchströmt. Die Probelösung wird mit 1—2 ml Pufferlösung in die Säule gewaschen und unter Verwendung von 0,1 m Citratpuffer, p_H 1,5, als beweglicher Phase mit einer Fließgeschwindigkeit von etwa 6 ml/Std entwickelt (P-Serin läuft vor P-Threonin). Das Eluat wird in 1 ml-Fraktionen aufgefangen. Nachdem 25 ml Flüssigkeit die Säule passiert haben, ist die Trennung beendet. Sollen auch Serin und Threonin erfaßt werden, so wird anschließend mit 0,1 m Citratpuffer, p_H 3,42, eluiert (im Gegensatz zu den phosphorylierten Aminosäuren wird Serin gegenüber Threonin verzögert). Die Trennung an der kleinen Säule ist jedoch, insbesondere bei höheren Fließgeschwindigkeiten, nicht sehr befriedigend. Komplexe Aminosäuregemische (Proteinhydrolysate) werden daher zweckmäßig an einer 100 cm-Säule fraktioniert, worüber in einer späteren Mitteilung berichtet werden soll. Die Trennung von Phosphoserin und Serin bzw. Phosphothreonin und Threonin wird an einer 15 cm-Säule (⌀ 1 cm) (Dowex 50-X 8, Na-form, 200—400 mesh) bei p_H 3,42 durchgeführt. Zur quantitativen Auswertung wird jede der 1 ml-Fraktionen mit 1 ml Ninhydrinreagens versetzt. Man erhitzt 15 min im kochenden Wasserbad, kühlt ab, verdünnt mit 5 ml Propanol-Wassergemisch, schüttelt 30 sec und mißt die Extinktion der erhaltenen Lösung unter Verwendung von 1 cm-Küvetten (Filter S 59 E). An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. K. Machner

Neue Erfahrungen über die polarographische Eiweißreaktion hat V. Kalous[3] in Fortführung früherer Angaben[4] mitgeteilt. Es handelt sich vornehmlich um elektrophoretische und polarographische Versuche zur Klärung der Natur der einzelnen Komponenten. So wird aus dem Vergleich der Beweglichkeiten die Identität des Mucoproteins MP-1 im Brdička-Filtrat (Sulfosalicylsäurefiltrat) mit der Fraktion M-1 in nativem Serum erneut festgestellt (Elektrophorese in Acetatpuffer im p_H-Bereich 4—5,8 bei der Ionenstärke 0,1). Diese Identität trifft für die Fraktion MP-2 bzw. M-2 nicht zu, sie fehlt also in nativem Serum. Die Fraktion MP-3 hat die Beweglichkeit von Albumin. Die Abhängigkeit der Pherogramme und Polarogramme von der Sulfosalicylsäurekonzentration wird untersucht und diskutiert. Zur Identifizierung der Komponenten im Filtrat wird auch eine fraktionierte Aussalzung mit Ammoniumsulfat[5] herangezogen. Das Eiweiß wird dann polarographisch bestimmt [als Grundlösung 0,001 m $Co(NH_3)_6Cl_3$, 0,05 m NH_4Cl, 1 m NH_3 und 0,3 m $(NH_4)_2SO_4$]. Auf Versuche über das Verhalten von Cystin in Co^{III}-Lösungen[6] und von Insulin in Glycinpufferlösung[7] ist hingewiesen.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **105**, 474—478 (1957). Techn. Univ. Berlin.

[2] J. biol. Chemistry **211**, 907 (1954); vgl. diese Z. **148**, 305 (1955/56).

[3] Acta chim. Acad. Sci. hung. **9**, 301—310 (1956). Univ. Prag (ČSR).

[4] Kalous, V.: Collect. czechoslov. chem. Commun. **19**, 1039 (1954); Chem. Listy **48**, 747 (1954); vgl. diese Z. **149**, 229 (1956).

[5] Štokr, J.: Diplomarbeit, Karlsuniversität Prag 1953.

[6] Jirsa, M. u. V. Kalous: Chem. Listy **48**, 775 (1954).

[7] Kalous, V.: Collect. czechoslov. chem. Commun. **21**, 1227 (1956).

Auch Gy. Lamm[1] hat die *Brdička-Reaktion bei polarographischen Eiweißuntersuchungen von Serum und Leber bei Leberschädigungen* verwendet und speziell die Abhängigkeiten des Müller-Indexes (15faches Verhältnis der Stufenhöhe im Filtrat und in der denaturierten Probe[2]) bei Leberkranken und bei Ratten mit künstlich hervorgerufenen Leberschädigungen untersucht. Neben dem Serum wird auch Rattenleber (in dreifachem Volumen Wasser homogenisiert, 20 min zentrifugiert) polarographiert. Der bei akuter viraler Hepatitis beobachtete Abfall des Müller-Indexes konnte im Tierexperiment nur in der Leber bei chronischer Parenchymdegeneration von Ratten reproduziert werden. Die Ergebnisse werden in diagnostischer Hinsicht diskutiert. K. Cruse

Serumproteinbestimmung. N. Eriksen, L. D. Ellerbrook und S. W. Lippincott[3] haben einen statistischen Vergleich der Serumproteinbestimmung durch Elektrophorese und durch eine modifizierte chemische Bestimmung nach Wolfson u. Mitarb.[4] durchgeführt, chemisch gewonnene Fraktionen elektrophoretisch charakterisiert und die Mängel der elektrophoretischen Bestimmung diskutiert. Die chemische Bestimmung nach Wolfson wird durch Verwendung 3fach konz. Kupfersulfatlösung und 9fach starker Natronlauge verbessert, da hierdurch Störungen durch Ammoniumsulfat vermieden werden. Außerdem werden Standard- und Blindlösungen stets mit dem bei der Analyse zu erwartenden Salzgehalt versehen, wodurch die Ergebnisse an Genauigkeit gewinnen. Die elektrophoretischen Versuche werden in Veronalpufferlösung (p_H 8,6) bei 0° C und 8,9 V/cm an auf 1:5 verdünnten Serumproben in der Tiselius-Apparatur ausgeführt. Nur für Albumin und γ-Globulin werden nach beiden Methoden gut übereinstimmende Ergebnisse erhalten. Bei Elektrophorese der chemisch gewonnenen Albumin- und γ-Globulinfraktion nach Dialyse gegen Veronalpufferlösung (130 min Elektrolyse, Aufzeichnung des Densitogramms nach L. G. Longsworth[5] und Planimetrierung) werden in der Albuminfraktion von α_1-Globulin nicht unterscheidbare Anteile und auch solche des α_2-Globulinkomplexes festgestellt, auch ist der Albumingehalt der Natriumsulfitfraktion stets kleiner als der des Gesamtserums. Von der γ-Globulinfraktion werden in einzelnen Fällen bei pathologisch veränderten Sera nicht alle Anteile gefällt, so daß dann zu niedrige Werte resultieren. Besonders hervorgehoben und an Versuchen belegt wird die Bedeutung des Verhältnisses von Protein- zu Nicht-Protein-Gehalt des Serums bei der Berechnung der Proteingehalte aus dem Pherogramm und dem Gesamtproteingehalt. Die Ergebnisse werden auch mit der turbidimetrischen Phosphatmethode von J. C. Aull und W. M. McCord[6] verglichen; die Gründe für die Abweichungen zwischen den chemischen und elektrophoretischen Methoden werden eingehend diskutiert. K. Cruse

Zur colorimetrischen Bestimmung von Gesamtprotein, Albumin und Fibrinogen in Serum und Plasma empfehlen F. Rappaport und M. Loew[7] eine 10%ige Peptonlösung als Standardlösung. Zu ihrer Herstellung eignen sich die nachstehend

[1] Acta chim. Acad. Sci. hung. **9**, 311—317 (1956). Inst. Ernährungs-, Verpflegungswissensch., Budapest.

[2] Müller, O. H. u. J. S. Davis, jr.: J. biol. Chemistry **159**, 667 (1945).

[3] Clin. Chemistry **2**, 334—346 (1956). Univ. Seattle, Wash., (USA).

[4] Cohn, C. u. W. Q. Wolfson: Amer. J. clin. Pathol. **19**, 658 (1949). — Wolfson, W. Q., C. Cohn, E. Calvary u. F. Ichiba: Amer. J. clin. Pathol. **18**, 723 (1948).

[5] Chem. Reviews **30**, 323 (1942).

[6] J. Lab. clin. Med. **46**, 476 (1955).

[7] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 126—130 (1957). Beilinson Hospital, Petah Tikva (Israel).

genannten Handelspeptone: Peptonpuder (USP reagent, Retort Pharmaceutical Manuf. Chemists Co.), Difco (Protone) und die Oxo Peptone D,E und F (Oxo Co., London). — *Peptonlösung.* Man löst 10 g Pepton (bei Verwendung der Oxo Peptone E und F lediglich 8 g) in etwa 90 ml dest. Wasser, gibt 2 ml 1%ige HgOCN-Lösung hinzu und füllt im 100 ml-Meßkolben mit Wasser zur Marke auf. Die erhaltene Standardlösung ist mindestens 8 Monate haltbar. Sie entspricht 5,06 mg-% Gesamtprotein, 4,72 mg-% Albumin oder 520 mg-% Fibrinogen. Wegen Einzelheiten in der Durchführung der Bestimmungen kann auf die ausführlichen Angaben in der Originalarbeit verwiesen werden. K. Machner

In polarographischen Untersuchungen der Muskelproteine haben sich M. Baumann, B. Jámbor und E. Baán[1] besonders mit dem Aktinnachweis und mit dem Einfluß eines Adenosintriphosphatgehaltes (ATP) befaßt. Die Aktinlösungen wurden aus trockenen Kaninchenmuskeln durch Extraktion mit Wasser nach F. B. Straub[2] gewonnen, wobei nach 15 min Extraktion eine 0,1—0,5%ige α-Aktinlösung erhalten wird. Der Muskel wird dann auf dem Filter weitere 15 min bei langsamem Durchsaugen von Wasser gewaschen, dann 90 min mit Wasser extrahiert. Dabei wird eine 0,1—0,6%ige β-Aktinlösung gewonnen. Beide Lösungen sind praktisch rein und elektrophoretisch homogen. Zur Polarographie in Brdička-Lösung (die ammoniakalische Lösung des Kobalthexamminkomplexes nach dessen Vorschrift, aber 10fach konz.) wird 0,1 ml davon mit 0,9 ml der α-Aktinlösung versetzt und von — 0,8 V (gegen Bodenquecksilber) polarographiert. Zu Verdünnungsreihen wird mit Brdička-Lösung jeweils auf das doppelte Volumen verdünnt. Die Pränatriumwelle wird in Phosphatpufferlösung (p_H 6,8) untersucht. 0,5 ml Aktinlösung wird mit 0,8 ml der 0,0667 m Pufferlösung vermischt und von — 1,4 V beginnend polarographiert. Zur Verdünnung wird jeweils das gleiche Volum 0,0335 m Pufferlösung verwendet. — Die polarographischen und parallel durchgeführte Viscositätsmessungen beweisen die Existenz der globularen und fibrillaren Aktinmodifikationen und die Bildung der letzteren durch Polymerisation der globularen Modifikation bei Anwesenheit von Alkalimetallionen. Die Stufenhöhen des Aktins wachsen bei Verdünnen bis zu einem Maximum bei 0,06% für α-Aktin und 0,03% für β-Aktin. β-Aktin polymerisiert nicht. ATP beeinflußt das polarographische Verhalten des Aktins, denn in ATP-freien Proben besitzen die Polarogramme der Verdünnungsreihen keine maximale Stufenhöhe. Die Resultate werden sehr eingehend diskutiert. K. Cruse

Über Isolierung und Untersuchung von Mucoproteiden in Serum und Harn durch Papierelektrophorese bei p_H 4,5 berichten R. L. Markham, J. H. Jacobs und E. T. D. Fletcher[3]. Sie untersuchen mit verschiedenen bekannten Apparaturen und unter Anwendung mehrerer Puffergemische, teilweise mit zweidimensionaler Elektrophorese — im Harn erst nach Anreicherung durch Dialyse oder Adsorption — die Mucoproteidfraktion der beiden biologischen Flüssigkeiten. Bei p_H 4,5 stellt sich heraus, daß die beiden Mucoproteide M 1 und M 2 einen Teil der Fraktionen α_1 bzw. α_2 bilden, die bei p_H 8,6 auftreten. Durch Anfärben entweder des Protein- oder Kohlenhydratanteiles ist in bekannter Weise eine halbquantitative Bestimmung möglich. In pathologischem (rheumatische Arthritis) Serum und Harn sind M 1 und M 2 nicht einheitlich, während im normalen Serum M 1 einheitlich zu sein scheint. Im Harn treten bei p_H 4 noch 2 Fraktionen a und b auf, die noch schneller als M 1 wandern. E. Müller, Würzburg

[1] Acta chim. Acad. Sci. hung. **9**, 319—334 (1956). Akad. Wiss., Budapest (Ungarn).
[2] Studies on muscle **2**, 3, 17 (1942).
[3] J. Lab. clin. Med. **48**, 559—570 (1956). Royal Free Hosp., London (England).

Eine chromatographisch-fluorimetrische Methode zur Bestimmung von Adrenalin (Ad) und Noradrenalin (Nd) in Urin oder Gewebe beschreiben Ch. Sobel und R. J. Henry[1]. — *Bestimmung in Urin.* Man säuert 20 ml Harn in einem 125 ml-Erlenmeyer mit 6 n Schwefelsäure auf p_H 2 an, erhitzt den bedeckten Kolben 20 min auf dem Wasserbad, kühlt, alkalisiert mit 14%iger Natriumcarbonatlösung auf p_H 8,5 und zentrifugiert. 10 ml der überstehenden Flüssigkeit chromatographiert man sofort über eine Säule von aktiviertem Aluminiumoxyd (Alcoa grade F 20, 60—200 mesh). Hierzu füllt man eine 8×130 mm große Röhre mit dem in Wasser suspendierten Al_2O_3, bis die Säule eine Höhe von 4 cm erreicht, wäscht mit 5 ml 0,2 m Natriumacetatlösung, gibt den vorbereiteten Urin auf und wäscht mit 20 ml 0,2 m Natriumacetatlösung, dann mit 5 ml dest. Wasser. Daraufhin eluiert man mit 0,2 n Essigsäure und sammelt 20 ml des Eluates. Von diesem bringt man je 4 ml in 3 Reagensgläser: a (Blindprobe), b (Probe) und c (Probe + Standard), fügt zu a und b je 0,5 ml Wasser, zu c 0,5 ml Nd-Standard (siehe unten), bringt dann den Inhalt jeder der 3 Röhren durch Zusatz von je 1,0 ml Pufferlösung (siehe unten) auf p_H 6,0—6,5 und fügt schließlich je 0,1 ml 0,25%ige Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung zu. Nach 2 min gibt man zu a 1,0 ml 20%ige Natronlauge, zentrifugiert nach 20 min und bestimmt die Fluorescenz der überstehenden Flüssigkeit. b und c werden mit je 1,0 ml einer frisch bereiteten Mischung von 0,5 ml 2%iger Ascorbinsäurelösung und 4,5 ml 20%iger Natronlauge versetzt, ebenfalls zentrifugiert und auch ihre Fluorescenz (Fl) mit einem Beckman DU-Spektrophotometer unter Vorschaltung der Filter 5970 und 3387 ermittelt. Die Gleichung: (Fl b — Fl a)/(Fl c — Fl b) · 25 ergibt μg Catecholamine in 100 ml Urin, berechnet als Nd. — *Bestimmung in Gewebe.* Man verreibt 0,5 g Gewebe mit Sand unter Zusatz einiger ml 0,1 n Salzsäure, läßt absitzen, gießt das Überstehende in einen 100 ml-Cylinder ab und wiederholt die Extraktion, bis 100 ml Gesamtauszug erhalten werden. Nach der Filtration verdünnt man 1 ml dieses Extraktes mit 0,2 m Essigsäure auf 50 ml und verarbeitet je 4 ml wie beschrieben. Man erhält: (Fl b — Fl a)/(Fl c — Fl b) · 1,25 = mg Ad + Nd/g Gewebe. Nach einer im Original beschriebenen Arbeitsvorschrift kann schließlich der Ad-Gehalt des biologischen Materiales für sich bestimmt werden. — *Nd-Standard.* Man verdünnt 0,5 ml einer Lösung von 20,1 mg *Levarterenol bitartaric.* in 100 ml 0,1 n Salzsäure mit dest. Wasser auf 50 ml. 0,5 ml enthalten 0,5 μg Nd. *Pufferlösung.* Man mischt 6 ml 10 n Natronlauge mit 100 ml gesättigter Natriumacetatlösung. K. Söllner

Eine Halbmikromethode zur Salicylatbestimmung im Blut geben J. I. Routh, W. D. Paul, E. Arredondo und R. L. Dryer[2] an. Es handelt sich um eine Modifikation der Makromethode von B. B. Brody, S. Udenfriend und A. F. Coburn[3], die auf der Farbstoffbildung von Salicylsäure mit Eisen(III)-salzen beruht und zur Beseitigung von störenden Beimischungen die Salicylsäure mit Äthylenchlorid extrahiert. — *Ausführung.* In einem 12 ml-Glasstopfenzentrifugenglas unterschichtet man eine Lösung aus 0,3 ml 6 n Salzsäure und 0,5 ml Wasser mit 0,2 ml Blut, Plasma oder Serum. Die Pipette wird mehrmals mit der Lösung ausgeblasen. Nach Zugabe von 6 ml Äthylenchlorid schüttelt man 5 min mechanisch. Man zentrifugiert, macht mit einem dünnen Holzstäbchen ein Loch in die zwischen beiden Phasen schwebende Proteinschicht und pipettiert 5 ml der organischen Phase in ein ähnliches Zentrifugenglas, das 3 ml Wasser und 0,1 ml einer 1%igen Eisen(III)-nitratlösung in 0,07 n Salpetersäure enthält. Man schüttelt abermals 5 min, zentrifugiert und mißt die Extinktion der Wasserschicht bei 540 mμ. Man

[1] Amer. J. clin. Pathol. **27**, 240—245 (1957). Bio.-Sci. Lab., Los Angeles, Calif.
[2] Clin. Chemistry **2**, 432—438 (1956), State Univ. Iowa (USA).
[3] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **80**, 114 (1944).

kann Mikroküvetten benutzen und kommt dann beim letzten Schritt auch mit 2 ml Wasser aus. Blindwerte und Standardlösungen in einer Konzentration von 0—50 μg Salicylsäure/ml werden in üblicher Weise angesetzt. Die Werte stimmen gut mit denen der Makromethode überein. E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur enzymatischen Blutzuckerbestimmung geben A. S. G. Huggett und D. A. Nixon[1] an. Sie beruht auf der spezifischen Glucoseoxydation durch Glucoseoxydase nach D. Keilin und E. F. Hartree[2] und Bestimmung des resultierenden Peroxyds mit Peroxydase in Gegenwart eines geeigneten chromogenen Sauerstoffacceptors[3]. — *Ausführung.* Das Gesamtblut wird mit Natronlauge-Zinksulfat, 10%iger Trichloressigsäure oder absolutem Alkohol enteiweißt. Vom eiweißfreien 1:10-Filtrat pipettiert man 0,2 ml-Proben in Reagensgläser. Standardlösungen mit 5, 10 und 15 mg Glucose/100 ml werden ebenso behandelt. Jedes Glas versetzt man mit 2,5 ml folgender Lösung: 125 mg Glucoseoxydase, 5 mg Peroxydase und 0,5 ml einer 1%igen Lösung von o-Dianisidin in 95%igem Äthanol füllt man mit 0,5 m Natriumdihydrogenphosphatlösung auf 100 ml auf und stellt mit Natronlauge auf p_H 7,0 ein. Die Gläser kommen dann 60 min in ein Wasserbad von 35° C. Bei 420 mμ mißt man die Extinktion und entnimmt die Werte aus einer Eichkurve, die mit Standardglucoselösungen hergestellt worden ist. Die Kurve ist linear und bleibt es bei Vergrößerung des Enzymlösungszusatzes bis 500 μg Glucose. Auch in Gegenwart von Fructose erhält man gute Werte. E. Müller, Würzburg

Eine colorimetrische Bestimmungsmethode für kleine Mengen Inulin (2—20 μg) in tierischem Gewebe beschreibt B. E. Wahler[4]. — *Arbeitsweise.* Man erhitzt etwa 50 mg frisches Gewebe in einem mit Schliffstopfen fest verschlossenen Reagensglas 10 min lang mit 1,5 ml 0,75 n Natronlauge im Wasserbad auf 100° C und kühlt dann auf 20° C ab. Nun fügt man 2,5 ml 0,28 n $ZnSO_4$-Lösung + 0,25 n Salzsäure hinzu, schüttelt den Ansatz kräftig durch und saugt nach 30 min langem Stehen durch eine Glassinternutsche (Schott 17 G 3) vorsichtig ab. 2 ml des Filtrates versetzt man in einem Jenaer Reagensglas 18 × 180 mm mit 4 ml einer Lösung von 0,06 m Thioharnstoff + 0,002 m Resorcin + 0,0001 m $FeCl_3$ in konz. Salzsäure (frisch aus analysenreinem Material zu bereiten), erwärmt im Thermostat 9 min lang auf 78° C, kühlt sofort in kaltem Wasser auf 20° C ab und colorimetriert innerhalb von 30 min bei 515 mμ. Zur Ermittelung des Blindwertes erwärmt man 50 mg Gewebe mit 1 ml 1 n Salzsäure im zugeschmolzenen Rohr 30 min lang auf 100° C auf dem siedenden Wasserbad, setzt nach Abkühlen auf 20° C 0,5 ml 4,25 n Natronlauge zu, schmelzt erneut zu und erhitzt weitere 10 min auf 100° C. Nach dem Abkühlen auf 20° C verfährt man weiter wie oben beschrieben. Zur Bestimmung der Inulin-Standardkurve verwendet man Lösungen, die 0,15—1,5 μg/ml der Testsubstanz enthalten. Die Genauigkeit beträgt 99,5 ± 2,3% beim 2 μg- bzw. 99,8 ± 1,2% beim 10 μg-Standard. K. Söllner

Zur Mikrobestimmung von Cellulose, z. B. *in Bakterien,* benutzt G. G. Dearing[5] die Methode von B. Mendel, A. Kemp und D. K. Myers[6] in folgender *Ausführung.* Man isoliert die Cellulose, indem man die Bakterien in bekannter Weise mit Natronlauge (4 g/100 ml) behandelt, den Celluloserückstand unter Zusatz von

[1] Biochemic. J. **66**, 12 P (1957). St. Mary's Hosp. Medical School, London, W. 2.

[2] Biochemic. J. **39**, 293 (1945).

[3] Keston, A. S.: Abstr. Amer. chem. Soc. 129th meeting, p. 31c (1956). — Teller, J. D.: Abstr. Amer. chem Soc. 130th meeting, p. 69c (1956).

[4] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 84—89 (1956). Akad. Wiss. Berlin-Buch.

[5] Nature (London) **179**, 579 (1957). Nat. Res. Lab., Ottawa (Canada).

[6] Biochemic. J. **56**, 639 (1954); vgl. diese Z. **146**, 153 (1955).

Talkum als Beschwerungsmittel abzentrifugiert und ihn wieder in soviel Wasser suspendiert, daß die Konzentration höchstens 150 μg/ml beträgt. Einen aliquoten Teil der Aufschwemmung vermischt man mit dem dreifachen Volumen konz. Schwefelsäure und erhitzt genau 6,5 min im siedenden Wasserbad, wobei die Cellulose unter Verfärbung gelöst wird. Nach dem Abkühlen in Leitungswasser und Abzentrifugieren des Talkums mißt man die rötlichgelbe Färbung bei 520 mμ.

F. Neumann

Eine Methode zur colorimetrischen Bestimmung von N-(4-Methylbenzolsulfonyl)-N′-butylharnstoff (orales Antidiabeticum) *im Serum* teilt H. Spingler[1] mit. Die Methode beruht darauf, daß die Substanz bei 150° C quantitativ Butylamin abspaltet, das seinerseits mit Dinitrofluorbenzol umgesetzt und photometriert wird. — *Ausführung.* 1 ml Serum wird mit 5 ml Amylacetat, das mehrmals mit gleichen Volumina Wasser ausgeschüttelt worden ist und über Wasser aufbewahrt wird, 1 min in einem Reagensglas geschüttelt. Nach Zugabe von 0,2 ml 1 n Salzsäure schüttelt man nochmal 3 min gründlich. In einem Zentrifugenglas wird 2 min zentrifugiert. Von der organischen Phase pipettiert man 4 ml in ein graduiertes Reagensglas (Teilung 0,1 ml; Inhalt 20 ml), gibt 1 ml einer Lösung hinzu, die 0,1 ml 2,4-Dinitrofluorbenzol (p. a., Merck Nr. 2966) in 100 ml Amylacetat enthält, und beläßt nach Durchmischen 5 min in einem Flüßigkeitsthermostaten (z. B. mit Glycerin gefüllt) bei 150 $\pm$ 1° C. Nach Abkühlen erst in stehendem dann in fließendem Wasser auf Raumtemperatur mißt man die Extinktion in der 1 cm-Küvette bei 380 mμ. Im Blindwertansatz ersetzt man das Serum durch 1 ml Wasser. Für die Aufstellung einer Eichkurve stellt man eine wäßrige Lösung des Natriumsalzes der Substanz durch Zugabe der äquivalenten Menge Natronlauge zur Einwaage her und setzt Verdünnungen an, die 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 und 20,0 mg/100 ml enthalten.

E. Müller, Würzburg.

Zur Bestimmung von Stigmasterol in Soja-Steroiden mit Hilfe des radioaktiven Isotopen-Verdünnungsverfahrens acetylieren R. A. Donia, A. C. Ott und N. Drake[2] das aus Sojabohnenöl gewonnene Steroidgemisch und verdünnen mit Stigmasterol-^{14}C-Acetat von bekannter spezifischer Aktivität. Die Reinigung des Stigmasterols (I) erfolgt über die Tetrabromierung[3] und selektive Extraktion. — *Darstellung von I-^{14}C-Acetat:* In einem 10 ml-Erlenmeyer-Kolben werden 114,8 mg (1,4 mMol) aktives Natriumacetat (^{14}C im Carboxyl, 1,4 mC) geschmolzen und nach dem Abkühlen mit 0,34 g Acetylbromid versetzt. Nach 15 min kühlt man die Mischung auf 0° C ab, zerkleinert große Stücke mit einem Glasstab und schüttelt 10 min. Zur kalten Mischung gibt man 0,847 g I in 4 ml trockenem Toluol und kocht 1 Std unter Rückfluß. Nach dem Abkühlen werden 1 ml Acetylbromid und 1 ml Pyridin zugesetzt und es wird noch einmal 15 min unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit 4 Volumen Äther und schüttelt das Ganze 2mal mit Wasser aus. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Stickstoffstrom abgedampft. Der kristalline Rückstand wird in 4 ml Chloroform und 15 ml Methanol suspendiert und zur Lösung des I-Acetats erhitzt. Beim Abkühlen auf 0° C kristallisieren weiße Plättchen (0,787 g) von I-^{14}C-Acetat aus. Fp. 143—145° (Kofler-Block). — *Bestimmung der spezifischen Aktivität von I.* 1 mg ^{14}C-Acetat werden in genau 5 ml Chloroform gelöst und 6 Proben zu je 0,10 ml entnommen und für die Aktivitätsmessung auf Stahlschälchen (⌀ 25 mm, Tiefe 6 mm) an der Luft zur Trockne gebracht. Die Messung in einem Tracerlab-Modell

[1] Klin. Wschr. **1957**, 533—535. C. F. Boehringer & Söhne GmbH., Mannheim-Waldhof.

[2] Analyt. Chemistry **29**, 464—467 (1957). The Upjohn Co., Kalamazoo, Mich.

[3] Windaus, A., und A. Hauth: Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 4378 (1906).

SC-1 B Autoscaler erfolgt in der üblichen Weise. — *Bestimmung von I in Sojasteroidgemischen.* Eine abgewogene Probe wird zusammen mit einer bekannten Menge des I-^{14}C-Acetats in einem 5 ml-Rundkölbchen mit Rückflußkühler und Magnetrührer mit 1,5 ml Essigsäureanhydrid übergossen und $1^1/_4$ Std unter Rühren gekocht. Nach dem Abkühlen löst man die feste Masse in 2 ml Äthylendichlorid und setzt 1 ml einer Lösung von Brom in Äthylendichlorid zu (Molverhältnis Steroid : Brom wie 1 : 2). Dann wird sofort auf — 10° C abgekühlt und nach dem Zusatz von 10 ml Methanol noch 18 Std bei — 10° C gehalten. Der Niederschlag wird filtriert, mit kaltem Methanol und Aceton gewaschen, in 0,5—1 ml Methylenchlorid gelöst, und auf das 6fache Volumen mit Aceton verdünnt. Durch Abkühlen auf — 10° C erhält man das I-Acetat-Tetrabromid in reiner Form. Eine 2. Umkristallisation ergibt ein Produkt, das sich bei 195° C zersetzt. Brom-Doppelbestimmungen werden nach der Carius-Methode zur Kontrolle durchgeführt. Die Messung der spezifischen Aktivität erfolgt wie bei den reinem I-^{14}C-Acetat. Den Gehalt des eingesetzten Steroidgemisches an I erhält man nach der Gleichung:

$$\% S = 100\ (Ips/\text{mMol}\ SA^{+}/Ips/\text{mMol}\ SAT - 1) \cdot 0.9076\ \text{mg}\ SA^{+},$$

worin S Stigmasterol, Ips Impulse je Sekunde, SA^{+} zugefügtes Standard-I-^{14}C-Acetat, SAT I-Acetat-Tetrabromid, $0{,}9076 = S/SA$ Faktor für I in I-Acetat bedeuten. H. Pelzer

Eine Bestimmung von Stigmasterol in Sojabohnen-Steroidgemischen mit Hilfe der Infrarotspektroskopie läßt sich nach J. L. Johnson, M. F. Grostic und A. O. Jensen[1] auf Grund der spezifischen Absorptionsbande von Stigmasterol (I) bei 10,30 μ durchführen. Sie fehlt sowohl bei Sitosterol als auch bei den sonstigen Bestandteilen des Sojabohnenöls. — *Arbeitsweise.* Eine genau abgewogene Menge (etwa 100 mg) esterfreie Sojasteroide werden in 2 ml spektralreinem Chloroform gelöst, in 0,5 mm-Zellen gefüllt und das IR-Spektrum zwischen 10,0 und 10,75 μ in einem Perkin-Elmer-Modell 21 aufgenommen (Schlitzbreite 0,25 mm bei 10 μ). Zur Ermittlung der Höhe der Absorption bei 10,30 μ wird von dem Absorptionspunkt bei 10,1 μ ab eine Basislinie[2] gezogen, deren Anstiegswinkel sich aus dem Verhältnis $A_{10.1}/A_{10.3} = 1{,}09$ ergibt [A = Extinktion (Absorbance)]. Sodann vergleicht man mit der Absorptionskurve von reinem Stigmasterol, die unter gleichen Bedingungen aufgenommen wird. Die Berechnung des Stigmasterolgehaltes erfolgt nach der Gleichung: % Stigmasterol = (A_s der Probe/K_s Stigmasterol) · 100. $A_s = A_p - A_b$. A_s = Extinktion der Probe bei 10,3 μ korrigiert auf die Basislinienextinktion. A_p = Extinktion bei 10,3 μ. A_b = Basislinienextinktion bei 10,3 μ. K_s Stigmasterol = spezifischer Extinktionskoeffizient von Stigmasterol bei 10,3 μ, gemessen unter Verwendung der Basislinie. H. Pelzer

Bei der Anwendung des J_2-KJ-Farbtestes auf einige Oxyprogesterone erhielten W. J. McAleer und M. A. Kozlowski[3] überraschende Ergebnisse bezüglich Spezifität und Empfindlichkeit. Das Reagens (0,3% Jod—5% KJ) ist schon von anderen Autoren zur Sichtbarmachung einzelner Steroide auf Papierchromatogrammen verwendet worden. Nach Angabe der Verf. hat man mit folgenden Nachweisbarkeitsgrenzen zu rechnen (in μg/cm²): 17α-Hydroxyprogesteron 5—10; 11α-Hydroxyprogesteron 5—10; 16α-Hydroxyprogesteron 75; 11-Keto-17α-hydroxyprogesteron 5—10; 11-Keto-14α-hydroxyprogesteron 1—2; 11-Dehydro-17-hydroxycorticosteron 2—5; 14α-Hydroxy-Substanz S (I) 10; 11-Desoxy-17-hydroxycorticosteron 5—10; 11-Desoxycorticosteron (II) 300; 11α.17α-Dihydroxyprogesteron 5—10; 11-Epicorticosteron 5—10. Bei allen außer I erhält

[1] Analyt. Chemistry **29**, 468—470 (1957). The Upjohn Co., Kalomazoo, Mich.

[2] Heigl, J. J., M. F. Bell und J. U. White: Analyt. Chemistry **19**, 293 (1947).

[3] Arch. Biochem. Biophysics **66**, 125—127 (1957). Merck & Co., Rahway, N. J.

man Flecken, deren blaue Farbe bis zur 30 min stabil ist. I verblaßt von intensiv blau in wenigen Sekunden zu völlig farblos. — Die Empfindlichkeit der Farbreaktion kann bei einigen Steroiden ganz erheblich gesteigert werden, wenn man nach der Behandlung durch das J_2-KJ-Reagens das Chromatogramm mit Diäthyläther besprüht oder in diesen eintaucht. Dabei erweitert sich z. B. die Nachweisbarkeitsgrenze bei II von 300 auf 2 $\mu g/cm^2$. Progesteron, das mit dem gewöhnlichen Reagens selbst bei 300 $\mu g/cm^2$ noch keine Farbe gibt, wird nach Behandlung mit Diäthyläther schon bei 2 $\mu g/cm^2$ sichtbar. Aceton und in geringerem Maße Methanol, Acetonitril und Formaldehyd haben einen ähnlichen Effekt. Verf. führen die J_2-KJ-Reaktion auf ein Oberflächenphänomen zurück, da entsprechende Versuche in Lösung nicht gelingen, wohl aber an der Oberfläche von Steroidkristallen. — Folgende geprüften Steroide geben auf dem Papier keinen positiven J_2-KJ-Test: 14α-Hydroxyprogesteron, 6α- und 6β-Hydroxyprogesteron sowie 7α- und 7β-Hydroxyprogesteron. H. Pelzer

Ein Trichloressigsäure-Reagens zur Lokalisierung von Pregnan-3α,17α,20-triolen auf Papierchromatogrammen entwickelt C. de Courcy[1]. Es kann zur Identifizierung und Isolierung von Pregnan-3α,17α,20-triolen(I) im nichtketonischen Steroidanteil von biologischen Extrakten verwendet werden. Mit seiner Hilfe wird das folgende halbquantitative Verfahren zur Bestimmung von I im Harn ausgearbeitet. — *Arbeitsweise.* Ein 24 Std-Harn wird auf übliche Weise mit 50000 E β-Glucuronidase hydrolysiert, mit Methylenchlorid oder Äthylacetat extrahiert und der Extrakt mit 1 n NaOH-Lösung ausgeschüttelt, bis die wäßrige Phase farblos ist. Dann wird mit Wasser neutral gewaschen. Nach Abdampfen des organischen Lösungsmittels im Vakuum wird mit 0,2 g Girard-Reagens T und 1 ml Eisessig über Nacht stehen gelassen und nach Neutralisation mit 1 n Natronlauge mit Äthylacetat extrahiert. Die in der organischen Phase enthaltenen nichtketonischen Steroide werden nach Abdampfen des Lösungsmittels in soviel Methanol gelöst, daß etwa 2 μg Pregnantriol/μl enthalten sind (0,5—1 ml für Extrakte vom Harn gesunder Personen, 5—20 ml bei Patienten mit Nebennierenrinden-Hyperplasie). Etwa 10 μl werden zur Papierchromatographie aufgetragen (Whatman-Papier Nr. 1). Nun wird mit der bekannten Technik der absteigenden Verteilungs-Papierchromatographie mit Toluol-Isooctan-Methanol-Wasser (150 : 50 : 160 : 40) entwickelt. 5—25 μg I werden als Vergleich mitchromatographiert. Die Entwicklung dauert etwa 4 Std. Nach dem Trocknen besprüht man unter dem Abzug mit Trichloressigsäure (TCE)-Reagens (10 g in 20 ml Äthanol) und erhitzt 10 min im Trockenschrank (Abzug!) auf 75° C. Die Flecken mit I färben sich dabei fahlblau und erscheinen im Dunkeln unter einer UV-Lampe (366 mμ Emission) mit blaugrüner Fluorescenz. Läßt man als Vergleich verschiedene bekannte Mengen I mitlaufen, so lassen sich durch Vergleich von Farbintensität und Fleckengröße im Bereich von 5—25 μg halbquantitative Aussagen über die ursprüngliche Konzentration im Harn machen. *Spezifität.* Von 48 geprüften Steroiden geben nur Pregnan-3α,17α,20α-triol (I α) und dessen C_{22}-Epimeres (I β) sowie Ätiocholan-3α,17β-diol (II) eine blaue Fluorescenz und eine blaue Farbe unter den beschriebenen Bedingungen. Die R_f-Werte sind: Iα 0,33; Iβ 0,42 und II 0,56. allo-Pregnan-3α,17α,20α-triol (IIIα) und dessen C_{20}-Epimeres (IIIβ) (R_f = 0,38 und 0,48) geben blaue Farbe im sichtbaren Licht und eine grau-beige Fluorescenz im UV-Licht. Δ^5-Pregnen-3β,17α,20α-triol (IVα) und sein C_{20}-Epimeres (IVβ) geben blaßrote Fluorescenz und eine violette Farbe (R_f = 0,26 und 0,33), Δ^5-Pregnen-3β-ol-20-on (V) eine rote Farbe und schwach orange Fluorescenz. Erhitzt man auf 110° C, so verblaßt die Fluorescenz aller dieser Steroide und es erscheinen nun die Pregnan-3α,11β,17α,20,21-pentole

[1] J. Endocrinology **14**, 164—170 (1956). Jefferson Med. Coll., Philadelphia, Pa.

(20α und β) in blauer Fluorescenz, Δ^4-Pregnen-17α,20,21-triol-3-on (20α und β) und dessen 17β-Hydroxyanaloge mit gelber Farbe und Fluorescenz. Pregnan-3α,17α,20α,21-tetrol-11-on (20α und β) und Pregnan-3α,17α,20α-triol-11-on geben keine Fluorescenz. Zur Isolierung größerer Mengen von Iα und Iβ kann man vor der Papierchromatographie eine Vorreinigung an einer Silicagelsäule (95 g, 20×600 mm) durch Verteilungschromatographie durchführen. Als Elutionsmittel dient Äthylacetat-Isooctan-Methanol-Wasser (500 : 1000 : 750 : 750). Bei einer Fließgeschwindigkeit von 1 ml/2 min enthält die Fraktion von 360—450 ml des Eluats Iβ, die von 420—740 ml Iα. H. Pelzer

Eine Methode zur Bestimmung von Aldosteron, Cortisol und Corticosteron in biologischen Extrakten, besonders im Harn, haben P. J. Ayres, O. Garrod, S. A. Simpson und J. F. Tait[1] ausgearbeitet. Sie bedienen sich hierbei der Isotopenverdünnungsmethode in Verbindung mit der quantitativen Bestimmung dieser Steroide durch Fluorescenz. Es lassen sich damit noch wenige μg/24 Std-Harn quantitativ erfassen. Durch eine 4malige chromatographische Reinigung unter verschiedenen Bedingungen ist ein großes Maß an Spezifität gewährleistet. Durch Zusatz von Reinsubstanzen zu Harnproben wurde gefunden, daß die Ergebnisse bei Aldosteron(I) und Cortisol(II) etwa 70% der ursprünglich vorhandenen Mengen angeben. Die Werte von Corticosteron(III) sind wahrscheinlich Maximalwerte, weil III nicht völlig von anderen fluorescierenden Substanzen abgetrennt werden kann. Die Schwankungsbreite beträgt bei I 15%, bei II 7%. — *Arbeitsweise.* Der 24 Std-Harn wird auf p_H 1 angesäuert. Nach Zusatz von 2 μg 4-^{14}C-II (1,5 mC/mMol) und 1 μg 4-^{14}C-III (1,5 mC/mMol) wird bei Raumtemperatur 24 Std kontinuierlich mit 500 ml Chloroform extrahiert[2] und dann noch einmal mit 250 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformphasen werden mit 150 ml 0,05 n Na_2CO_3-Lösung und 100 ml Wasser gewaschen und die Waschflüssigkeiten mit 100 ml Chloroform reextrahiert. Die gesamten Chloroformlösungen verdampft man bei 40° C im Vakuum zur Trockne und chromatographiert den Rückstand an einer 3 g-Silicagelsäule[3]. Der Rückstand des Äthylacetat-Methanol-Eluats wird dann an einer Säule aus 26 g Celite 545 (60 × 1 cm) chromatographiert[4,5]. Die stationäre Phase ist Wasser-Methanol (1 : 1), die mobile Phase Benzol-Äthylacetat (5,2 : 1). Als Vergleich läßt man 50 μg Sudanrot mitlaufen. Bei 3 ml-Fraktionen sammelt man die Fraktionen 6—12, gerechnet vom Erscheinen des Farbstoffs ab, dampft im Vakuum zur Trockne und acetyliert mit 0,15 ml Essigsäureanhydrid in 0,3 ml Pyridin bei Raumtemperatur über Nacht. Nun setzt man 0,5 μg Aldosteron-(carboxy-^{14}C)-diacetat (1,4 mC/mMol) zu und chromatographiert an 13 g Celite 545 (30 × 1 cm). Die stationäre Phase ist Methanol-Wasser (4 : 1), die mobile Phase Leichtpetroleum (80—100° C)-Benzol (3 : 2). Auch hier kann man Sudanrot zum Vergleich mitlaufen lassen. Bei 5 ml-Fraktionen kommt der Hauptteil des Aldosteron-diacetats in Glas 5 und 6 nach dem Farbstoff. Zwischen Glas 7 und 8 wird die mobile Phase in Leichtpetroleum-Benzol (2 : 11) verändert. Cortisolacetat erscheint dann in Glas 15 und 16 nach dem Farbstoff. 20% der I-diacetat-Fraktion und 10% der vom II-acetat werden eingedampft und die Radioaktivität im Zählrohr gemessen. Zur Ermittlung der Selbstabsorption der Begleitsubstanzen kann man nach der Messung in Chloroform lösen, 1 μg 4-^{14}C-Cortisol zusetzen, eindampfen

[1] Biochemic. J. **65**, 639—646 (1957). Middlesex Hospital, London (England).

[2] Cohen, S. E.: J. Lab. clin. Med. **36**, 769 (1950).

[3] Bush, I. E., u. A. A. Sandberg: J. biol. Chemistry **205**, 782 (1953).

[4] Morris, C. J. O. R., u. P. Williams: Biochemic. J. **54**, 470 (1953); vgl. diese Z. **145**, 383 (1955).

[5] Simpson, S. A., u. J. F. Tait: Mem. Soc. Endocrinol. **2**, 9 (1953).

und erneut messen. Verff. beobachteten eine Selbstabsorption von etwa 10%. Ein 2. Teil des Eluats wird eingedampft und im Bush-System 3[1] (I-diacetat) bzw. einem modifizierten Bush-System 2[1] (II-acetat) chromatographiert; als stationäre Phase dient Methanol-Wasser (4 : 1). Die Soda-Fluorescenzmessung erfolgt dann nach der neuen Methode der Verff[2]. Die weniger polaren Fraktionen der ersten Säule chromatographiert man zur Bestimmung von III an Celite (60 × 1 cm) mit Methanol-Wasser (4 : 1)/Benzol-Leichtpetroleum (10 : 1) und bringt die Fraktion mit größter Radioaktivität zur Papierchromatographie im modifizierten Bush-System 2. Sonst wird wie oben verfahren. H. Pelzer

Eine Fluorescenzmethode zur Mikroanalyse von Δ^4-3-Ketosteroiden auf Papierchromatogrammen beschreiben P. J. Ayres, S. A. Simpson und J. F. Tait[3]. — *Ausführung.* Das Chromatogramm wird auf beiden Seiten mit einer 0,004%igen (g/v)-Lösung von Tetrazoliumblau [3,3′-Dianisol-bis-4,4′-(3,5-diphenyl)-tetrazoliumchlorid] in 10%iger wäßriger Natronlauge besprüht[4]. Nach dem Trocknen mit einer elektrischen Heizsonne und einem Heißluftföhn fluorescieren die Flecken mit Δ^4-3-Ketosteroiden in UV-Licht. Zur quantitativen Messung der Fluorescenz werden die Flecken ausgeschnitten und genau zentrisch in den Strahlengang einer Quecksilberdampflampe gebracht, der mit einem Ilford-Filter Nr. 828 gefiltert ist. Als Sekundärfilter dienen ein Interferenzfilter (maximale Transmission bei 5975 Å) zusammen mit den Ilford-Filtern Nr. 401 und 607. Zwischen Papier und Interferenzfilter sorgt eine Quarzlinse für eine Bündelung der emmittierten Strahlen. Hinter den Sekundärfiltern werden die Strahlen dann durch ein geeignetes Linsensystem auf eine Photomultiplier-Kathode vereinigt, von wo sie über ein Verstärkersystem einen Galvanometerausschlag bewirken. Dieser ist der Intensität des emmittierten Fluorescenzlichtes proportional. Die Haltevorrichtung für die zu messenden Papierflecken ist so konstruiert, daß jederzeit ein Fluorescenz-Standard verglichen werden kann. — Durch die Messung der Fluorescenz einer großen Zahl von Chromatogrammflecken von Aldosterondiacetat und Cortisonacetat[5] fanden die Verff., daß der günstigste Meßbereich zwischen 0,5 und 4 μg liegt. Ein Papierleerwert muß vom selben Chromatogramm mitgemessen werden. Außerdem ist es notwendig, auf jedem Chromatogramm genau bekannte Standardmengen der betreffenden Steroide mitlaufen zu lassen. Auf deren Fluorescenzintensität werden nachher die Messungen der unbekannten Flecken bezogen, da die Fluorescenz in ihrer Stärke von Chromatogramm zu Chromatogramm variiert. Die Schwankungsbreite der Messungen beträgt etwa $\pm$ 10%. Durch Errechnung von Mittelwerten aus vielen Messungen kann die Genauigkeit wesentlich erhöht werden. Die Fleckengröße ist bei einem Durchmesser zwischen 0,6 und 1,8 cm ohne merklichen Einfluß auf das Meßergebnis. Die beschriebene Methode wird besonders bei der Bestimmung von Aldosteron und Hydrocortison im Harn angewandt[5]. Bezüglich näherer experimenteller und apparativer Einzelheiten muß auf das sehr ausführliche Original verwiesen werden. H. Pelzer

Ein spektrophotometrisches Verfahren zur Analyse binärer Gemische von Harnsteroiden wurde von J. Bitman, J.-P. Rosselet, A. de M. Reddy und S. Lieberman[6]

[1] Bush, I. E.: Biochemic. J. **50**, 370 (1952); vgl. diese Z. **137**, 440 (1952/53).

[2] Ayres, P. J., S. A. Simpson u. J. F. Tait: Biochemic. J. **65**, 647 (1957); vgl. das folgende Referat.

[3] Biochemic. J. **65**, 647—651 (1957). Middlesex Hospital, London (England).

[4] Bush, I. E.: Recent Progr. Hormone Res. **9**, 321 (1954).

[5] Ayres, P. J., O. Garrod, S. A. Simpson u. J. F. Tait: Biochemic. J. **65**, 639 (1957); vgl. das vorstehende Referat.

[6] J. biol. Chemistry **225**, 39—52 (1957). Columbia Univ., New York (USA).

entwickelt. Es ist bisher noch nicht gelungen, auf chromatographischem Wege ein gesättigtes und das entsprechende einfach ungesättigte 17-Ketosteroid zu trennen, z. B. Dehydroisoandrosteron (I) von Isoandrosteron (II), Δ^9-Androstenolon (III) von Androsteron (IV) oder Δ^9-Ätiocholenolon (V) von Ätiocholanolon (VI). Die gesättigten und ungesättigten Steroide unterscheiden sich in ihren UV-Spektren nach Lösung in konz. Schwefelsäure[1]. Sind bei einem solchen Steroidgemisch nach Lösung in konz. Schwefelsäure A_1 und A_2 die gemessenen Extinktionen bei λ_1 und λ_2, S_1 und S_2 bzw. U_1 und U_2 die Extinktionen des gesättigten *(S)* bzw. des ungesättigten *(U)* Steroides bei diesen Wellenlängen, dann ist $A_1 = S_1 + U_1$ und $A_2 = S_2 + U_2$. Da ferner S_1/S_2 und U_1/U_2 konstant sind *(K_S* und *K_U)* ergibt sich für

$$S_1 = A_1[K_S/(K_S - K_U)] - A_2[K_S \cdot K_U/(K_S - K_U)].$$

Man kann K_S und K_U mit Hilfe von Reinsubstanzen ermitteln. Die Konstanten sind im Bereich 1—20 μg/ml Schwefelsäure konzentrationsunabhängig und werden von den Verff. wie folgt angegeben: I 0,51; II 6,46; III 0,98; IV 2,29; V 0,83; VI 1,78. Diese Angaben beziehen sich auf die Extinktionen bei den Wellenlängen 312 und 406 mμ (für I und II); 310 und 348 mμ (für III und IV) bzw. 312 und 342 mμ (für V und VI). Bei der Messung von Gemischen ergibt sich demnach für I—II $S_1 = 1{,}09\,A_1 - 0{,}55\,A_2$; für III—IV $S_1 = 1{,}75\,A_1 - 1{,}71\,A_2$; für V—VI $S_1 = 1{,}87\,A_1 - 1{,}55\,A_2$. Die Totalsteroidkonzentration bei der Messung kann bis 20 μg/ml betragen, außer bei III—IV, wo sich die beiden Komponenten bei einer Totalkonzentration von mehr als 10 μg/ml in ihren Spektren stören. Verff. brachten den Beweis für die Genauigkeit ihrer Methode durch Einsatz von Reinsubstanzgemischen mit bekannten Mengenverhältnissen. Die Fehlerbreite beträgt etwa $\pm$ 10%. Bei Anwendung des neuen Verfahrens auf chromatographische Fraktionen aus Harnextrakten wurden gute Übereinstimmungen mit der Epoxydmethode[2] festgestellt. H. Pelzer

Die Identifizierung einiger Adrenocorticoidsteroide aus Harn wurde von N. J. Holness, J. B. Lunnon und C. H. Gray[3] durchgeführt. Es handelte sich um Untersuchungen an den Steroiden X_1 bis X_5 und R_3 bis R_7, die schon früher aus Harn isoliert worden waren[4]. Der Harn (9 Tageharn) stammte von einem Patienten mit Lupus erythematosus, der täglich 40 mg ACTH erhielt. Die Steroide X_1 bis X_5 waren in freier Form ausgeschieden worden und enthielten sowohl eine Δ^4-3-Ketogruppe als auch eine reduzierende Seitenkette. Die als Glucuronide ausgeschiedenen R_3 bis R_7 hatten reduzierende Eigenschaften, aber keine Δ^4-3-Ketogruppe. Zur Identifizierung wurde erst durch Papier- und Säulenchromatographie gereinigt [Verwendung von Whatmanpapier Nr. 2 und Entwicklung mit Benzol — 50%ig wäßrigem Methanol, bzw. Celite, getränkt mit 0,45 Vol./Gew. 50%ig wäßrigem Methanol als stationäre Phase und Entwicklung mit Benzol — Äthylacetat (95 : 5)]. Zur Charakterisierung wurde a) mit authentischen Proben verglichen, b) acetyliert und mit den entsprechenden acetylierten Proben verglichen, c) in konz. Schwefelsäure gelöst und das Spektrum gemessen, d) Schmelz- und Mischschmelzpunkt

[1] Rubin, B. L., H. Rosenkrantz, R. I. Dorfman und G. Pincus: J. clin. Endocrinol. **13**, 568 (1953).

[2] Lieberman, S., L. B. Hariton, P. Humphries, C. P. Rhoads und K. Dobriner: J. biol. Chemistry **196**, 793 (1952).

[3] J. Endocrinology **14**, 138—145 (1956). King's College, London (England).

[4] Courcy, C. de, I. E. Bush, C. H. Gray und J. B. Lunnon: J. Endocrinology **9**, 401 (1953).

bestimmt, e) mit Perjodsäure oxydiert[1] und die erhaltenen 17-Ketosteroide durch Papierchromatographie in Leichtpetroleum/Benzol (1 : 1)/75%igem wäßrigem Methanol identifiziert. Die Ergebnisse lauten im einzelnen: X_3 = Δ^4-Pregnen-11 β, 17 α, 20β,21-tetrol-3-on (Reichsteins Substanz E); X_4 = Δ^4-Pregnen-17α,20β,21-triol-3,11-dion (Reichsteins Substanz U); R_3 = 5β-Pregnan-3α,11β,17α,21-tetrol-20-on (Tetrahydrocortisol); R_4 = 5β-Pregnan-3α,17α,21-triol-11,20-dion (Tetrahydrocortison). Die restlichen Steroide von DE COURCY u. Mitarb.[2] konnten wegen der geringen Mengen nicht identifiziert werden. H. PELZER

Die Verwendung der Verteilungssysteme nach dem Zaffaroni-Typ bei der Papierchromatographie von steroidischen Sapogeninen bringt nach W. J. MCALEER und M. A. KOZLOWSKI[2] zum Teil ausgezeichnete Trennergebnisse. Bezüglich der papierchromatographischen Technik halten sich die Verf. an die Angaben anderer Autoren[3–6]. Die Anfärbung geschieht mit einem Vanillin-Phosphatreagens. (10 g Vanillin werden in 100 ml warmem Äthanol gelöst und dann mit 100 ml 85%iger Phosphorsäure versetzt.) — Die 1—2 Std bei 70° C im Luftstrom getrockneten Streifen werden mit dem Reagens besprüht und nun waagerecht in einen Ofen von 80—90° C gebracht. Nach 1 min erscheinen alle Sapogenine als gelbe Flecken. Erhitzt man weitere 10 min, so zeigen die einzelnen Sapogenine spezifische Farben: *Sarsasapogenin* (I) gelb, *Tigogenin* (II) orange, *Diosgenon* (III) blaßrot, *Diosgenin* (IV) grau, *Neodiosgenin* (V) graublau, *Pennogenin* (VI) grün, *Hecogenin* (VII) blaßrot, $\Delta^{9,11}$-*Hecogenin* (VIII) blaßrot, *Rockogenin* (IX) purpur, *12-Epirockogenin* (X) purpur, *Yuccagenin* (XI) purpur, *Pseudodigogenin* (XIII) braun, *Mexogenin* (XIV) blaßrot, *Mannogenin* (XV) rosa, *Kammogenin* (XVI) blaßrot, *Kryptogenin* (XVII) grün. Die R_f-Werte sind folgende: System A (Hexan-Carbitol, Entwicklungsdauer 6 Std): I 0,87; II 0,80; III 0,69; IV 0,65; V 0,59; *Sudangelb* (XVIII) 0,43; *Sudanrot* (XIX) 0,57; *Azobenzol* (XX) 0,73. — System B (Normalheptan [85—100° C]-Formamid : Methanol 1 : 1, 6 Std): VI 0,43; VII 0,28; VIII 0,23; — System C (Cyclohexan : Benzol 1 : 1 — Formamid : Methanol 1 : 1, 6 Std): IV 0,92; VI 0,83; VII 0,78; IX 0,67; X 0,59; XI 0,53; XIV 0,28, XV 0,11; XVI 0,09; XVII 0,04; *p-Oxyazobenzol* (XXI) 0,36; *p-Aminoazobenzol* (XXII) 0,77; XIX 0,92. — System D (Benzol — Formamid : Methanol 1 : 1, 6 Std): *Pseudodiosgenin* (XII) 0,91; XIII 0,87; XIV 0,72; XV 0,59; XVI 0,55; XVII 0,48; XXI 0,76. — System E (Mischoctan [100—140° C] — Benzylalkohol, Durchlaufchromatogramm, 16 Std) in cm: I 9; II 8; III 7; IV 9; V 8; VI 7; VII 6; VIII 5.5; IX 5.5; XI 7; XIV 6; XV 5,5; XVI 5,5; XVII 4,0; XIX 10. — Die aufgetragenen Mengen Substanz betragen bis 50 μg je Fleck, ohne daß Überladungseffekte zu beobachten sind. H. PELZER

Für die colorimetrische Bestimmung von Pyridoxin (Vitamin B_6) im Harn mit 2,6 Dichlorchinon-chlorimid empfiehlt M. SCEMAMA[7] folgende *Arbeitsweise. Zur Bestimmung des freien Pyridoxins* wird der Urin mit $^1/_{10}$ seines Volumens 10%iger neutraler Bleiacetatlösung geklärt und nach einigen Minuten zentrifugiert. *Zur Bestimmung des Gesamtpyridoxingehaltes* werden 16 ml Urin mit 4 ml 5 n Salzsäure

---

[1] BUSH, I. E.: Biochemic. J. **59**, XIV (1955).

[2] Arch. Biochem. Biophysics **66**, 120—124 (1957). Merck & Co., Rahway, N. J.

[3] ZAFFARONI, A., R. B. BURTON und E. H. KEUTMANN: Science **111**, 6 (1950).

[4] SAVARD, K.: J. biol. Chemistry **202**, 457 (1953).

[5] KOCHAKIAN, C. D., und G. STIDWORTHY: J. boil. Chemistry **199**, 607 (1952); vgl. diese Z. **143**, 320 (1954).

[6] NEHER, R., und A. WETTSTEIN: Helv. chim. Acta **35**, 276 (1952).

[7] Ann. Biol. clinique **14**, Heft 3—4 (1956); durch Laboratorio (Granada) **23**, 527—532 (1957).

1 Std auf dem Wasserbad gehalten und in ein 25 ml-Kölbchen übergeführt. Man bringt mit Natronlauge auf einen leicht sauren p_H-Wert und füllt auf 25 ml auf. 20 ml davon werden mit 2 ml neutraler 10%iger Bleiacetatlösung versetzt, gemischt und nach einigen Minuten zentrifugiert. 5 ml der klaren Lösung werden im Zentrifugenröhrchen mit 1 ml Wasser, 3 ml Ammoniaklösung (160 g Ammoniumchlorid und 160 ml reines Ammoniak im Liter) und 0,2 g Mangandioxyd versetzt. Man schüttelt 5 min, fügt 10 ml der Reagenslösung (s. u.) hinzu, schüttelt 30 sec und zentrifugiert. Man nimmt 8 ml der klaren Lösung ab. Dazu gibt man 2 ml 95%igen Äthylalkohol und mißt die Extinktion bei 650 mμ gegen dest. Wasser. Der Testwert wird durch eine analoge Untersuchung bestimmt, indem man dem Urin vor der Reaktion bekannte Mengen Pyridoxin zusetzt. Zur Bestimmung von Fremdfärbungen wird die Reaktion unter Zusatz von 1 ml 5%iger Borsäurelösung durchgeführt, wodurch die Farbreaktion von Pyridoxin ausgeschlossen wird. Man berechnet den Pyridoxingehalt nach $x = [m/(n—m)]a$, wobei m Extinktion der Probe, n Extinktion der Testprobe, a bekannte Konzentration der Testprobe sind. — *Reagenslösung.* 1 g 2,6-Dichlorchinon-chlorimid in 50 ml Aceton wird durch Zugabe von etwa 200 ml dest. Wasser gefällt, abfiltriert, getrocknet und im Eisschrank aufbewahrt. Man stellt eine butanolische Lösung mit 62,5 μg/ml her und bewahrt in der Kälte in einer gelben Flasche auf. IRMGARD PFITZER

Über Versuche zur Bestimmung und Charakterisierung biologisch wichtiger Pyrrole berichtet G. MÜLLER[1]. Folgende Verbindungen werden untersucht: *2,4-Dimethyl-5-carbäthoxypyrrol-3-carbonsäure(I), 2,4-Dimethyl-5-carbäthoxypyrrol(II), 2,4-Dimethyl-5-carbäthoxypyrrol-3-acrylsäure(III), 2,4-Dimethyl-5-carbäthoxypyrrol-3-propionsäure(IV), 2,4-Dimethyl-3-carbäthoxypyrrol-5-carbousäure(V), Kryptopyrrolcarbonsäure(VI), α-Pyrrolcarbonsäure(VII), Pyrrol, Indol* und *α-Methylindol.* Bei der Rundfilterchromatographie auf Schl. & Sch.-Papier 2043b, 21,5 bzw. 27,5 cm Durchmesser, nach L. RUTTER[2] ergeben sich nach 15stündiger Laufzeit folgende R_f-Werte: II 0,85, Indol 0,78, V 0,53, I 0,15, III 0,10 und Pyrrol 0,00. Die Pyrrole werden in 1%iger alkoholischer oder 0,5%iger natriumcarbonatalkalischer Lösung aufgetragen. Das Sichtbarmachen geschieht mit einer 1%igen Lösung von p-Dimethylaminozimtaldehyd (DAZ) in 10%iger Salzsäure. Die Empfindlichkeitsgrenze liegt hier je nach Substanz bei 0,001—0,010 mg/ml, während sie für p-Dimethylaminobenzaldehyd (DAB) (EHRLICHS Reagens) 0,010—0,140 mg/ml beträgt. Von I, II, III, IV, V, VI, Pyrrol, Indol und α-Methylindol stellt Verf. die Isatinverbindungen dar. Bei den tetrasubstituierten Pyrrolen gelingt die Kondensation nur bei Zugabe von 50%iger Schwefelsäure. Konzentrierte Salpetersäure entfärbt die Farbstoffe in der Hitze, gegen Zinkstaub, Zinn(II)-chlorid, Dithionit, Hydrazin und Natriumamalgam sind sie resistent. Die Rundfilterchromatographie mit Kerose (190—225° C, Shell A.G.)/Pyridin (20 : 15) als Lösungsmittel ergibt nach 4—5 Std nachstehende R_f-Werte für die Isatinverbindungen von VI = 0,17, III = 0,22, I = 0,25, V = 0,31, Pyrrol = 0,32, IV = 0,34 und II = 0,37. Weiter werden die $HgCl_2$-Verbindungen von I, II, III, V und VII dargestellt. Von den Kondensationsprodukten von I, II, III, V, Indol und von den $HgCl_2$-Verbindungen mit DAZ sind die Absorptionskurven über einen Bereich von 700—480 mμ in Diagrammen zusammengestellt. Die DAZ-Farbstoffe von I und II zeigen gegenüber den entsprechenden DAB-Farbstoffen eine Rotverschiebung um rund 75 mμ. Im experimentellen Teil ist die Darstellung der Isatin- und $HgCl_2$-Verbindungen beschrieben.

E. MÜLLER, Würzburg

[1] J. prakt. Chem. Reihe 4, **4**, 179—189 (1957). Med. Klinik der Charité, Berlin.

[2] Nature (London) **161**, 435 (1948); Analyst **75**, 37 (1950); vgl. diese Z. **135**, 53 (1952).

Eine verbesserte Methode zur mikrovolumetrischen Histaminasebestimmung teilt R. Kapeller-Adler[1] mit. Die Methode beruht auf dem Prinzip der Permanganattitration von Indigodisulfonat, die bei p_H 7,2 in Anwesenheit von Phosphatpuffer quantitativ verläuft. Das bei der Histaminase-Histaminreaktion entstehende Wasserstoffperoxyd oxydiert den Farbstoff in bekannter Weise. Die immer vorhandene Katalase stört nicht. Verglichen mit einer biologischen Methode liegen die Differenzen bei verschiedenen Enzympräparaten (gereinigter Schweinenierenextrakt, Placentaextrakt oder Schwangerenserum) zwischen + 2,7 und — 2,7%. — *Ausführung.* In ein Pyrexreagensglas gibt man 0,5 ml Histaminaselösung (Schwangerenserum oder einen Extrakt mit 1%iger Natriumchloridlösung aus zerkleinerter menschlicher Placenta, oder eine Lösung teilweise gereinigter Schweinenierenhistaminase in Phosphatpuffer von p_H 7,2), 8,3 ml Phosphatpuffer p_H 7,2, 0,2 ml einer Lösung von 1 mg Histamindihydrochlorid/ml Phosphatpuffer und 1 ml einer Lösung von 200 mg Indigodisulfonat (Indigocarmin) in 300 ml glasdestilliertem Wasser, der ein kleiner Tropfen Chloroform zur Konservierung zugesetzt ist. Nach der Stoppuhr leitet man 1 min Sauerstoff durch, verschließt mit einem Gummistopfen, mischt vorsichtig und beläßt 24 Std bei 37° C. Die Endkonzentrationen betragen für Phosphatpuffer $1{,}66 \cdot 10^{-4}$ m, für Substrat $1{,}08 \cdot 10^{-4}$m und für Indigocarmin $1{,}43 \cdot 10^{-4}$ m. Blindwerte ohne Substrat laufen in gleicher Weise mit. Anschließend titriert man mit 0,002 n Kaliumpermanganatlösung, bis die blaue Farbe eben verschwunden ist. Die Differenz aus der für den Blindwert und die Probe verbrauchten Millilitern bezeichnet die Histaminaseaktivität in Permanganateinheiten. Eine Einheit entspricht dem Abbau von 0,46 μg Histamin gleich dem Verbrauch von 0,05 μl Sauerstoff/Std bei 37° C.

E. Müller, Würzburg

Eine cerimetrische Methode zur Harnsäurebestimmung, speziell in Geflügelexkrementen, geben J. Tinsley und T. Z. Nowakowski[2] an. Die Methode ist besonders dann von Vorteil, wenn die Harnsäure in großen Mengen ungelöst vorliegt und erst durch geeignete Mittel in Lösung gebracht und extrahiert werden muß, wie das z. B. bei Vogelexkrementen der Fall ist. Bei dieser Operation können Fehler unterlaufen, die in dem neuen Verfahren nach eingehenden Untersuchungen auf ein Minimum herabgedrückt sind. — *Ausführung.* a) Extraktion frischen Materials. 4—5 g durchmischte Exkremente werden in etwa 100 ml Wasser möglichst fein suspendiert, in einen 250 ml-Meßkolben gefüllt, mit 50 ml 0,5%iger Lithiumcarbonatlösung versetzt und $1^1/_2$ Std geschüttelt. Man füllt bis zur Marke auf, filtriert durch trockenes Filtrierpapier (18 cm, Whatman Nr. 1), verwirft die ersten Filtratanteile und sammelt das Filtrat zur Bestimmung. — b) Extraktion getrockneten und gemahlenen Materials. Man trocknet über Nacht bei 105° C, wägt etwa 1 g in einen 250 ml-Meßkolben ein, fügt 50 ml 0,5%ige Lithiumcarbonatlösung hinzu und verfährt weiter wie oben. Will man heiß extrahieren, so verwendet man eine 0,25%ige Lithiumcarbonatlösung oder eine 0,5%ige Li_2CO_3-Lösung die mit 0,5%iger Borsäure auf p_H 9 gepuffert ist, und erhitzt 15 min im siedenden Wasserbad. Dies ist bei Routineuntersuchungen wegen der kürzeren Zeitdauer zu empfehlen. — *Harnsäurestandardlösungen.* Lösungen in Lithiumcarbonat mit höherem p_H-Wert als 9 müssen immer frisch angesetzt werden; solche in saurer Lithiumchloridlösung [3,5%ige (Gew./Vol.) Lösung von Lithiumchlorid in 0,1 n Salzsäure] halten sich einige Tage. Nach O. Folin[3] kann man Formaldehyd

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **22**, 391—394 (1956). Univ. u. Royal Infirmary, Edinburgh (Schottland).

[2] Analyst **82**, 110—116 (1957). Univ. Reading (England).

[3] J. biol. Chemistry **86**, 179 (1930).

zur Konservierung zusetzen und mit Schwefelsäure ansäuern, dann hält sich die Lösung im Dunkeln bis zu 5 Jahren. — Man pipettiert 5 ml Harnsäurestandardlösung bzw. filtrierten Extrakt in Doppelansatz in konische 15 ml-Zentrifugengläser, setzt 2 ml ammoniakalische Silber-Magnesiumlösung (s. unten) zu, mischt mit einem ausgezogenen Glasstab und läßt 30 min stehen. Nach 5 min langem Zentrifugieren bei 2000 U/min (17 cm Radius) hebert oder gießt man den Überstand ab, läßt die Röhrchen 10 min umgekehrt stehen und entfernt noch anhaftende Flüssigkeit mit Filtrierpapier. Aus einer Pipette läßt man 10 ml saure Lithiumcloridlösung zulaufen, bringt in 2—3 min mittels des Glasstabs alle Harnsäure in Lösung und zentrifugiert vom Silberchlorid ab. Ohne den Bodensatz aufzuwirbeln gießt man den Überstand und das Spülwasser in einen Erlenmeyer-Kolben. Nach Zugabe von 1 Tropfen käuflichem Ferroin-[0-Phenanthrolineisen(II)-komplex]-Indicator titriert man mit einer 0,01 n Ammoniumcer(IV)-sulfatlösung in 1 n Schwefelsäure aus einer 5 ml-Bürette, die in 0,01 ml geteilt ist. Der Blindwert aus 10 ml saurer Lithiumchloridlösung muß berücksichtigt werden. 1 ml 0,01 n Cer(IV)-lösung entspricht 0,8403 mg Harnsäure oder 0,2801 mg Stickstoff. Bei 1 mg Harnsäure ist die Genauigkeit $\pm$ 2%. — *Ammoniakalische Silber-Magnesiumlösung.* 3 g Silberlactat werden in Wasser, das etwa 1 ml Milchsäure enthält, unter Erwärmen gelöst; nach Abkühlen verdünnt man auf 100 ml und filtriert. Zu 70 ml dieser Lösung gibt man 30 ml Magnesiamixtur [8,75 g krist. Magnesiumsulfat, 17,5 g Ammoniumchlorid und 30 ml Ammoniak (D 0,880) in 100 ml] und 100 ml Ammoniak (D 0,880). Die filtrierte Lösung wird in dunkler Flasche aufbewahrt.

E. Müller, Würzburg

Mit der Trennung und Bestimmung von Purinen und Pyrimidinnucleotiden im Picogramm-Maßstab (10^{-12} g) befaßt sich J.-E. Edström[1]. Wie der Verf. fand, lassen sich diese Verbindungen elektrophoretisch auf einer Faser von regenerierter Cellulose, wie z. B. Kupferseide, auftrennen und hernach durch UV-Absorptionsmessung bei 275 mμ photometrisch bestimmen. Die Standardabweichung beträgt $\pm$ 7%. — *Präparieren des Trägers.* Als Träger wird Kupferseide des Bayerwerkes Dormagen verwendet, die zur Quellung 5 min lang in 8,1%ige Natronlauge eingelegt wird, hernach mit Wasser gewaschen und in 2 cm lange Stücke geschnitten wird. Diese Stücke werden einige Stunden in hochviscose Pufferlösung eingelegt. — *Herstellung der Pufferlösung.* 80 g Glucose werden in ein Gemisch von 20 ml 4n Schwefelsäure und 31,3 g Glycerin (Dichte 1,261) eingetragen, auf 100° C erhitzt und unter Rühren gelöst. Nach 50—75 min kühlt man die Lösung rasch ab und bewahrt sie im Kühlschrank auf. — *Pufferbrücken.* Zur Vermeidung von Elektrolyseerscheinungen zwischen den Metallelektroden und der Trägersubstanz werden Pufferbrücken verwendet. Diese stellt man so her, daß man fein gepulvertes Silicagel mit einigen Millilitern Pufferlösung zu einer festen Paste verrührt, zu Häkchen formt und diese auf eine Quarzplatte aufbringt. Zwischen den Pufferbrücken wird sodann der Trägerfaden ausgespannt. — *Viscositätsbestimmung des Puffers.* Diese wird indirekt durch Leitfähigkeitsmessung vorgenommen. Zur Umrechnung dient die Beziehung Widerstand in $\Omega\mu \cdot 1{,}34 \cdot 10^{-4}$ = Viscosität in Centipoise. Der spezifische Widerstand soll im Bereiche von $1—4 \cdot 10^8$ $\Omega\mu$ liegen. — *Elektrophorese.* Hierzu wird das aufzutrennende Gemisch in Salzsäure gelöst, am Ende des Fadens aufgebracht und sodann ein Strom von 0,035—0,055 A/min je μ^2 Faserquerschnitt durchgeschickt. — *UV-Photographie.* Nach beendeter Elektrophorese wird der Faden im UV-Mikroskop bei 275 mμ photographiert (Expositionszeit 6 sec). Nach

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **22**, 378—388 (1956). Univ. Göteborg (Schweden).

Entwickeln des Films wird dieser photometriert. Zur Berechnung des Gehalts der Verteilungskurve werden Eichkurven mit bekannten Mengen verschiedener Pyrimidinnucleotide hergestellt. G. Kainz

Eine Methode zur Bestimmung von Nucleinsäuren geben B. Bakay, L. Kirschner und G. Toennies[1] an. Das Verfahren beruht auf der bekannten Reaktion der Nucleinsäuren mit Cystein und Schwefelsäure und ist eine Modifikation älterer Methoden. Nach eingehenden Untersuchungen ließen sich Schwierigkeiten, die den Methoden anhaften, ausschalten. Die Störung, die Desoxyribonucleinsäure (DNS) bei der Bestimmung von Ribonucleinsäure (RNS) verursacht, wird durch Auswertung der Tatsache beseitigt, daß DNS in heißer Trichloressigsäurelösung im Gegensatz zu RNS zerstört wird. Unter Berücksichtigung der ermittelten optimalen Bedingungen ergibt sich folgendes Verfahren. — *Ausführung.* Standardlösungen. Gleiche Mengen DNS und RNS werden derart in Wasser gelöst, daß der Gesamtphosphorgehalt 0,24 mg/ml nicht übersteigt. Je 12,5 ml dieser Lösung und je 12,5 ml 20%ige Trichloressigsäure pipettiert man in 2 Meßkölbchen zu 100 ml. Die Kölbchen werden lose geschlossen und in ein kochendes Wasserbad gestellt. Ab und zu nimmt man die Kölbchen heraus, um das Schäumen zu unterbrechen. Das eine Kölbchen wird nach 8 min, das andere nach 40 min in Wasser gekühlt. Sobald Raumtemperatur erreicht ist, füllt man auf und saugt durch Glasfritte ab. Der 8 min-Extrakt für die DNS-Bestimmung muß innerhalb 1 Std verarbeitet werden. — Behandlung der unbekannten Probe: Zur Fettstoffbeseitigung kocht man die Probe mit 95%igem Alkohol aus oder extrahiert im Soxhlet-Apparat, trocknet über Calciumchlorid und dann bei 110° C über Phosphorpentoxyd in der Trockenpistole. 10—100 mg des Trockenpulvers gibt man in ein 100 ml-Meßkölbchen, versetzt mit 25 ml 10%iger Trichloressigsäure und verfährt wie bei den Standardsubstanzen. — Farbreaktion für DNS. 0,2; 0,4; 0,6 und 0,8 ml des 8 min-Ansatzes der Standardlösung und der Probe, die 0,2—15 μg DNS-Phosphor enthalten, pipettiert man in 50 ml-Gläser, die mit Glasstopfen versehen sind und füllt mit Wasser auf 0,8 ml auf. Man setzt 0,2 ml frisch bereitete, 5%ige Cysteinhydrochloridlösung zu, stellt die Gläser für etwa 5 min in ein Eiswasserbad, läßt 9 ml eiskalte konz. Schwefelsäure an der Wand herunter einlaufen, beläßt nochmals 5 min im Eisbad, mischt kräftig und läßt noch 5—10 min im Kalten stehen. Die Gläser kommen für 20 min in ein Bad von 60° C und 10 min in eins von 25° C. Man mißt in kalibrierten Küvetten (18×150 mm Reagensgläser) bei 470 mμ. — Farbreaktion für RNS. In gleiche (wie oben) 50 ml-Gläser pipettiert man 0,5; 1,5 und 2,0 ml des 40 min-Ansatzes, die 0,2—20 μg RNS-Phosphorsäure enthalten, und füllt mit Wasser auf 2,0 ml auf. Der Zusatz von 10 ml eiskalter konz. Schwefelsäure erfolgt unter gleichen Bedingungen wie bei DNS. Die Gläser kommen für 20 min in ein siedendes Wasserbad, werden 10 min in einem Bad von 25° C gekühlt und mit 0,25 ml frisch bereiteter 3%iger Cysteinhydrochloridlösung versetzt. Nach Schütteln läßt man 30 min bei Raumtemperatur stehen und mißt bei 390 mμ. — Berechnung. Es wird in Extinktionseinheiten (EE) (Extinktion mal 1000) abgelesen. Der Blindwert muß extrapoliert werden. Man trägt die EE-Werte der Standardlösungen auf und verlängert ihre Verbindungslinie (Durchschnitt) bis zum Schnittpunkt mit der Ordinate, was den extrapolierten Blindwert ergibt. Er beträgt beim Coleman-Spektrophotometer Modell 11 für DNS etwa 80 EE und für RNS etwa 200 EE. Teilt man den Nucleinsäurephosphorgehalt in Mikrogramm durch das entsprechende EE-Increment, erhält man die Standardkoeffizienten. Sie betragen etwa 0,0242 μg DNS-Phosphor/EE bei 470 mμ und 0,0407 μg RNS-Phos-

[1] Arch. Biochem. Biophysics **65**, 500—512 (1956). Lankenau Hosp. Res. Inst. u. Inst. Cancer Res., Philadelphia, Pa. (USA).

phor/EE bei 390 mμ. Die Werte zeigen Schwankungen von ± 0,8% bzw. ± 3%. Die Untersuchungsproben behandelt man einschließlich der Extrapolation des Blindwertes ebenso. Die gefundenen Netto-EE-Werte werden mit den entsprechenden Standardkoeffizienten multipliziert; man erhält die Mikrogramme Nucleinsäurephosphor, die im aliquoten Teil des Trichloressigsäureextraktes der Probe enthalten sind. E. Müller, Würzburg

Zur Bestimmung von Alkaloiden in biologischem Material empfehlen Z. I. el Darawy und S. L. Tompsett[1] das von C. W. Ballard, J. Isaacs und P. G. W. Scott[2] beschriebene Verfahren zur Bestimmung kleiner Alkaloidmengen durch deren Bindung an saure Indicatorfarbstoffe zu gefärbten, in organischen, mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmitteln löslichen Komplexen. Nach Feststellung der Verff. können die medizinisch verwendeten Alkaloide mit Ausnahme von Morphin nach der angeführten Technik ermittelt werden. — *Bestimmung von Strychnin (St) im Urin.* Man bringt 10 ml St-haltigen Urin mit 0,1 n Natronlauge auf p_H 8—8,5 und schüttelt ihn 10 min lang intensiv mit 25 ml Benzol. Nach dem Zentrifugieren trennt man 20 ml der nunmehr St-haltigen organischen Phase ab und schüttelt sie mit 0,5 ml einer mittels Phosphatpuffer auf p_H 7,4 eingestellten Bromthymolblaulösung 5 min lang durch. Hierbei wird die dem Alkaloid aliquote Indicatormenge als Komplex von dem Benzol aufgenommen. Nach dem Zentrifugieren schüttelt man 15 ml der wiederum abgetrennten Benzolphase mit 4 ml 0,1 n Natronlauge, wodurch der Indicator wieder in die wäßrige Phase gelangt. Durch Vergleich der bei 510 mμ gemessenen Extinktion der Natronlauge mit der analog behandelter Lösungen bekannter St-Konzentration läßt sich die Menge dieses Alkaloides in dem verarbeiteten Harn ermitteln. Bei 8 Versuchen, bei denen je 50 μg St in 10 ml Urin gelöst worden waren, fanden Verff. Werte zwischen 89% und 102% der Theorie. Plasma und Gewebeauszüge werden analog behandelt. In manchen Fällen muß das Analysenmaterial gereinigt werden. Dies geschieht durch Passieren einer Florisil-Säule, Auswaschen der Begleitstoffe und anschließende Eluierung des Alkaloides. Liegen 2 oder mehr Alkaloide in den Untersuchungsflüssigkeiten vor, so müssen diese nach vorhergegangener Reinigung zunächst papierchromatographisch getrennt werden. Das Original enthält ausführliche Arbeitsvorschriften und Tabellen mit den von Verff. erhaltenen Analysenwerten. K. Söllner

Bestimmung von Harnindican. Die Reaktion von F. Obermayer und A. Jolles[3], Oxydation von Indoxyl in Gegenwart von Thymol durch Eisen(III)-chlorid und Salzsäure zum 4-Cymol-2-indolindolignon, die zur quantitativen Harnindicanbestimmung dient, hat W. Feldheim[4] in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur untersucht und festgestellt, daß bei einer Entwicklungsdauer von 15—20 min und einer Temperatur von 70° C eine vollständige Farbstoffbildung gewährleistet ist. Bei gesunden Personen erhielt man im Durchschnitt 30—80 mg tägliche Indicanausscheidung im Harn. — *Ausführung.* 20 ml der Harntagesmenge werden mit bidestilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 10 verdünnt. 4 ml dieser Lösung werden nacheinander mit 5 ml 20%iger wäßriger Trichloressigsäurelösung, 0,5 ml 5%iger äthanolischer Thymollösung und 8 ml Obermeyers Reagens[5] versetzt und umgeschüttelt. Dann wird das Gemisch 15—20 min zur Bildung des Farbstoffes auf

[1] Analyst **81**, 601—606 (1956); Dep. Clin. Chem., Univ. Edinburgh (Schottland).
[2] J. Pharmacy Pharmacol. **6**, 971 (1954); vgl. diese Z. **148**, 295 (1955/56).
[3] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **87**, 310 (1913); Ber. Akad. Wien **124**, 83 (1915); vgl. auch diese Z. **54**, 625 (1915).
[4] Pharmazie **12**, 82—84 (1957). Anst. Vitaminforsch. u. -prüf. Potsdam-Rehbrücke.
[5] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **26**, 426 (1898); vgl. diese Z. **38**, 65, 397 (1899).

70° C erhitzt, abgekühlt und 3mal mit je 10 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden eingeengt und nach dem Abkühlen wieder mit Chloroform auf 4 ml aufgefüllt. Die Lösung wird in 10 mm-Küvetten im Pulfrich-Photometer (Filter S 57) gemessen. Die Berechnung erfolgt nach der aus Eichkurven ermittelten Formel: mg-% Indican = 16,45 · E (Extinktion). EVA NEUHAUS

Ein chromatographisches Verfahren zur Bestimmung von Nitrofurantoin (NF) im Urin (von Patienten, die mit Furadantin behandelt werden) beschreiben R. C. BENDER, E. G. NOHLE und M. F. PAUL[1]. Das Verfahren gestattet die Bestimmung von 1—2 mg NF in 100 ml. Man bringt in eine Chromatographierröhre einen Wattebausch, darauf eine 5—10 mm starke Schicht Celite Nr. 545 (Johns-Manville Products Corp., New York) und füllt nun in Höhe von 50—75 mm ein mit Wasser angeschlämmtes Gemisch von 1 Teil Filtrol (Grade 19; Filtrol Corporation, Los Angeles) und 2 Teilen Celite ein. Zuletzt wäscht man die Säule bei einem Unterdruck von 300—450 mm Hg mit mindestens 50 ml Wasser nach, wodurch das Adsorbens soweit zusammengepreßt wird, daß 4—6 ml Flüssigkeit/min (nicht weniger) durchlaufen. Nun verdünnt man den (erforderlichenfalls zentrifugierten oder filtrierten) Harn im Verhältnis 1 : 5 mit Wasser, läßt 20 ml der Verdünnung durch die Säule passieren und wäscht anschließend mit 20 ml destilliertem Wasser, dann mit 5 ml 1 : 10 verdünntem Ammoniak (wodurch braun gefärbte Urinfarbstoffe entfernt werden) und nochmals mit 20 ml Wasser aus. Daraufhin eluiert man das adsorbierte NF mit 0,1 m Na_3PO_4-Lösung, indem man das Eluat nach Entfernung der ersten 4 ml unter Ausschluß von hellem Licht in eine mit 1 ml 1 n Salzsäure beschickte Vorlage fließen läßt, bis die Eluierflüssigkeit völlig farblos geworden ist. Es sind hierzu je nach der NF-Konzentration im Urin 8—18 ml Phosphatlösung erforderlich. Zuletzt bringt man das Eluat durch Zusatz von Salzsäure auf p_H 6,8 und verdünnt es mit Wasser auf 20 ml. Die quantitative Bestimmung des NF erfolgt entweder spektrophotometrisch durch Messung der Extinktion der Lösung bei 375 mμ oder colorimetrisch nach folgendem Verfahren: Man erwärmt 3 ml der NF-haltigen Lösung mit 1 ml frisch bereiteter, 1,5%iger wäßriger Phenylhydrazinhydrochloridlösung und 1 ml 5n Salzsäure 25 min auf 70° C, kühlt 5 min in kaltem Wasser und schüttelt den Ansatz nach Zugabe von 5 ml Toluol 20—30mal kräftig durch. Nach dem Zentrifugieren trennt man die Toluolphase ab, bestimmt deren Extinktion bei 430 mμ und vergleicht den gefundenen Wert mit denen von Furadantinlösungen bekannter Konzentration nach der gleichen Vorbehandlung (UV-Absorptionskurven im Original). K. SÖLLNER

Über die Isolierung und einige analytische Eigenschaften des „Fugu"-Giftes ($C_{25}H_{42}O_{20}N_6$) berichtet J. NAGAI[2]. Der konzentrierte wäßrige Extrakt der Eierstöcke des Kugelfisches (Spheroides rubripes), in denen sich das Fugugift hauptsächlich befindet (die Muskulatur ist frei davon), wird durch eine Amberlite-IRC-50 Säule, Na^+-Form, geschickt und das Gift mit 0,5 n Salzsäure eluiert. Die Salzsäure wird mit Amberlite-IR-4B beseitigt, die Lösung stark eingeengt und das Gift mit Alkohol extrahiert. Der in Wasser aufgenommene Alkoholtrockenrückstand wird mit Amberlite-IRC-50, H^+-Form, von einigen Verunreinigungen befreit. Das Eluat wird mit Quecksilber(II)-chloridlösung gereinigt, mit H_2S vom Hg^{2+} und mit Amberlite-IR-4B von Cl^- befreit. Beim Einengen scheidet sich das Gift in feinen nadelförmigen Drusen aus, die sich aus heißem 70%igem Äthanol umkristallisieren lassen. Ausbeute 2,5 mg aus 25 kg frischem Eierstock. Das Gift ist noch nicht rein, hat keinen Schmelzpunkt, zeigt bei 240° C Schwärzung und bei über 300° C noch kein

[1] Clin. Chemistry **2**, 420—426 (1956). Norwich Pharmac. Co., Norwich, N. Y.

[2] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 104—106 (1956). Univ. Kyushu, Fukuoka (Japan).

Schmelzen oder Zersetzen. In Wasser und Äthanol ist es wenig löslich, in anderen Lösungsmitteln unlöslich. Nach dem Umkristallisieren schwanken die Analysenwerte noch beträchtlich. Das Gift ist mit Schwermetallsalzen und den üblichen Alkaloidfällungsmitteln nicht fällbar und gegen alkalisches Milieu empfindlich. Es gibt keine bekannte Farbreaktion und zeigt kein spezifisches UV-Spektrum. Auch das Infrarotspektrum gibt keinen Anhalt für die Konstitution. DL für die Maus ist 0,008 μg/g. E. Müller, Würzburg

Über den Nachweis und die Bestimmung von Patulin, einem Antibioticum eines Penicillium-Stamms, mit Benzidin berichtet H. Opel[1]. — *Ausführung.* 1 ml Probelösung versetzt man mit 5 ml einer frisch herzustellenden, 0,2%igen Lösung von Benzidin in Eisessig und erhitzt in mit Glaskugeln verschlossenen Reagensgläsern 2 Std im siedenden Wasserbad. Man füllt auf 10 ml mit Eisessig auf und mißt im Pulfrich-Photometer mit Filter S 45. Da das Farbmaximum nach 2 Std noch nicht erreicht ist, läßt man 3—4 Standardproben bekannter Patulinkonzentration zur Kontrolle mitlaufen. Man mißt gegen den Blindwert aus 1 ml Wasser + 5 ml Reagens. Die Eichkurve ist im Bereich von 50—500 μg linear. Der maximale Fehler beträgt $\pm$ 3%. E. Müller, Würzburg

Eine manometrische Methode zur Bestimmung der Peptidaseaktivität teilen R. M. Johnstone und J. H. Quastel[2] mit. Sie beruht auf der Tatsache, daß Peptide auf Formolzusatz in Hydrogencarbonatlösung CO_2 entwickeln, dessen Menge mit zunehmender Hydrolyse von Peptidbindungen steigt, theoretisch je freiwerdender NH_2-Gruppe um ein Mol CO_2. Verff. arbeiten mit Suspensionen und Extrakten von *Clostridium sporogenes* und benutzen Triglycin als Substrat. — *Ausführung.* Da die beobachtete Menge CO_2 nie der theoretischen entspricht, muß eine „Formolgleichgewichtskonstante" bestimmt werden. Sie ist der Quotient aus theoretischem und gemessenem CO_2-Volumen und wird mit K_f' für Triglycin und mit K_f'' für Glycin bezeichnet. Die Aminosäure- oder Peptidlösung gibt man in das Hauptgefäß der Warburg-Apparatur, setzt 0,2 ml 0,28 m Natriumhydrogencarbonatlösung zu und füllt auf 3,2 ml auf. In den Seitenarm kommen 0,7 ml Formollösung (90 ml reines Formalin versetzt man mit 2 Tropfen Phenolphthaleinlösung und setzt soviel Alkali zu, bis ein schwach rosa Farbton auftritt; nach Auffüllen auf 100 ml setzt man einige Gramme Aktivkohle zu, filtriert und begast das klare Filtrat mit 93% N_2 + 7% CO_2; die Lösung ist im Dunkeln 1 Woche haltbar). Der Ansatz wird mit dem gleichen Gemisch begast und auf 37° C eingestellt. Dann mischt man und liest ab, bis sich das Volumen nicht mehr vermehrt (bei 0,0066 Mol Triglycin etwa 20—25 min) (Ablesung V_o μl CO_2). — *Enzymatische Hydrolyse.* Suspensionen oder Extrakte von C. sporogenes werden mit Triglycin in 0,028 m Hydrogencarbonatlösung unter 93% N_2 + 7% CO_2 Atmosphäre eine gewisse Zeit, meist 60 min inkubiert (Temperatur nicht angegeben, Ref.). Nach Zentrifugieren bei 20000 g (Suspensionen) bzw. nach vorherigem Enteiweißen durch 10 min langes Erhitzen im kochenden Wasserbad und anschließendem Zentrifugieren bringt man 2 ml Überstand in ein Warburg-Gefäß, füllt auf 3,2 ml auf und verfährt wie oben. Blindwerte von Suspension oder Extrakt müssen mitlaufen. Durch Subtraktion des Blindwertes vom gefundenen, erhält man den korrigierten Wert für die μl CO_2, mit dem berechnet wird (V_t μl). Man findet die Zahl μMole Tripeptid X, die zur Zeit t hydrolysiert sind, zu $X = \frac{V_t - V_o}{67{,}2/K_f'' - 22{,}4/K_f'} \cdot$ (Zur Ableitung der Gleichung vgl. Original.) E. Müller, Würzburg

[1] Naturwissenschaften **44**, 306 (1957). Inst. f. Phytopathologie, Aschersleben.

[2] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **23**, 88—91 (1957). McGill-Montreal General Hosp. Res. Inst., Montreal (Canada).